

Anneli Tirkkonen

VESINÄYTTEIDEN SÄILYVYYS
NÄYTTEENOTOSTA
ANALYSOINTIIN

Lämpötilan ja ajan vaikutus säilyvyyteen

Opinnäytetyö
Ympäristötekniologia


Huhtikuu 2014




MAMK

University of Applied Sciences

KUVAILULEHTI

 MAMK University of Applied Sciences		Opinnäytetyön päivämäärä 22.4.2014	
Tekijä(t) Anneli Tirkkonen		Koulutusohjelma ja suuntautuminen Ympäristötekniologia	
Nimeke Vesinäytteiden säilyvyys näytteenotosta analysointiin – lämpötilan ja ajan vaikutus säilyvyyteen			
Tiivistelmä <p>Laboratorioverkoston laajentumisen seurauksena näytteitä kuljetetaan yhä pidempien matkojen päähän analysoitavaksi. Kuljettaminen sekä näytteenoton ja analysoinnin välinen aika asettaa vaatimuksia näytteiden säilyvyydelle, sillä siihen vaikuttavat monet tekijät, esimerkiksi näytteen laatu, oikeat näyteastiat, kuljetuksen aikaiset lämpötilaolosuhteet, näytteiden säilyvyysajat sekä näytteiden kestäväointi.</p> <p>Eurofins Viljavuuspalvelu Oy:lle tehdyssä opinnäytetyössä kartoitettiin standardien asettamat vaatimukset kuljetusolosuhteille ja näytteen laatuun vaikuttaville tekijöille. Lisäksi selvitettiin Viljavuuspalveluun saapuvien vesinäytteiden kuljetuksen aikaiset lämpötilaolosuhteet eri vuodenaikoina tapahtuvilla näytelähetyksillä sekä selvitettiin lämpötilan ja säilytysajan vaikutus näytteiden pitoisuuksiin.</p> <p>Kuljetuksen aikaisia lämpötilaolosuhteita seurattiin näytelaukkuihin asetettujen lämpötilaloggereiden avulla 6.8.2012–7.8.2013 satunnaisesti. Lähetykset olivat pääasiassa eri vuodenaikoina laboratorioon tulevia alkulämpötilaltaan lämpimiä uimavesiä. Säilyvyystutkimuksissa tutkittiin kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen neljän erilaisen vesinäyte-erän käyttäytymistä säilytysajan pidentyessä. Lähtötasona pidettiin kylmässä kuljetettua ja säilytettyä sekä standardin mukaisesti näytteenottopäivänä analysoitua tai kestäväoityä näytettä, joihin 1–3 vrk säilytettyjä näytteitä verrattiin.</p> <p>Kuljetuksen aikaiset lämpötilaolosuhteet pysyivät suurimman osan mittausajasta (71 %) standardien SFS-EN ISO 19458 ja EN ISO 5667-3 asettaman lämpötilavaatimuksen (+5 ±3°C) mukaisena. Selkeitä poikkeamia havaittiin erityisesti kesäaikana tapahtuvissa näytelähetyksissä. Joillakin lämpimässä säilytetyillä näytteillä säilytysajan pidentyminen aiheutti muutoksia, erityisesti koliformisten bakteerien, <i>E.colin</i>, nitraatin ja nitriitin määriin.</p>			
Asiasanat (avainsanat) Kuljetus, näytteet, vesi, lämpötila, vesianalyysi, kolibakteerit, nitrifikaatio, denitrifikaatio, pH, humus, rauta, mangaani			
Sivumäärä 50	Kieli Suomi	URN	
Huomautus (huomautukset liitteistä) 11			
Ohjaavan opettajan nimi Tuntiopettaja/laboratorioinsinööri Marjatta Lehesvaara		Opinnäytetyön toimeksiantaja Eurofins Viljavuuspalvelu Oy	

DESCRIPTION

		Date of the bachelor's thesis 22.4.2014
Author(s) Anneli Tirkkonen		Degree programme and option Environmental technology
Name of the bachelor's thesis The shelf-life of samples from sampling to analyzing – the effect of temperature and time on shelf-life		
Abstract <p>Due to the expansion of the laboratory network, samples are being transported to farther distances to be analyzed. Transporting and the time between sampling and analysis set requirements to sample preservation: sample quality, correct sample containers, temperature during transportation, samples shelf-life and preservation of samples are all important factors.</p> <p>The purpose of the thesis made for Eurofins Viljavuuspalvelu Oy was to gather information of the standard sample transportation requirements and factors that affect sample quality. This thesis also investigates the temperatures of water samples transported to Viljavuuspalvelu Oy on different seasons, and how the temperature and preservation time affect the sample concentration.</p> <p>Transportation temperatures were monitored from 6th of August 2012 to 7th of August 2013 with temperature loggers randomly set inside sample cases. Most samples delivered to the laboratory were initially warm swimming waters sent during different seasons. In the preservation study, four different water stored in cold and warm temperature. Their reaction to lengthened storage time was documented. Samples stored for 1 to 3 days were compared to a standard sample that was analyzed or preserved during the day of collection and transported and stored in cold.</p> <p>Most of the time (71 %), transportation temperatures stayed within the limits of SFS-EN ISO 19458 and EN ISO 5667-3 standard's temperature requirements of +2 to + 8 C. Clear divergences were detected especially in samples during summer months. In some samples that were stored in warm, the prolonged storage time caused changes in concentrations of especially coliform bacteria, <i>E.coli</i>, nitrate and nitrite.</p>		
Subject headings, (keywords) Transport, samples, water, temperature, water analysis, coliforms, nitrification, denitrification, pH, humus, iron, manganese		
Pages 50	Language Finnish	URN
Remarks, notes on appendices 11		
Tutor Lecturer/laboratory engineer Marjatta Lehesvaara		Bachelor's thesis assigned by Eurofins Viljavuuspalvelu Oy

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	1
2	LAIN, ASETUKSEN JA STANDARDIN VAATIMUKSET.....	2
2.1	Vesinäytteiden säilymiseen vaikuttavat tekijät.....	3
2.1.1	Näytteestä johtuvat muutokset.....	3
2.1.2	Näyteasiat.....	4
2.1.3	Kuljetus	5
2.1.4	Säilytys.....	6
2.1.5	Kestävöinti	8
2.2	Laboratoriot	9
2.3	Talousvedestä tehtävät tutkimukset ja niiden laatuvaatimukset.....	10
3	KAIVOVESISTÄ TUTKITTAVAT PARAMETRIT	10
3.1	Koliformiset bakteerit ja <i>E.coli</i>	10
3.2	Typen kierto, nitraatti ja nitriitti	13
3.3	pH	15
3.4	COD _{Mn} ja KMnO ₄ -luku	17
3.5	Rauta ja mangaani.....	17
4	KÄYTETYT LAITTEET JA MENETELMÄT.....	19
4.1	Colilert® -testi	19
4.2	Aquakem 250.....	21
4.3	Automaattiset titraattorit	22
4.3.1	pH.....	22
4.3.2	KMnO ₄ -luku	23
4.4	iCAP Duo 6000 Series.....	24
4.5	Lämpötilaloggeri, EVT2.....	25
4.6	Tulosten vertailussa käytettävät termit ja laskukaavat	26
5	AINEISTO	28
5.1	Lämpötilan seuranta.....	28
5.2	Säilyvyystutkimus.....	29
5.2.1	Esitestaus.....	29
5.2.2	Näytteenotto.....	30
5.2.3	Säilyvyystutkimuksen suorittaminen	31

6	TULOKSET JA TULOSTEN TULKINTA.....	32
6.1	Lämpötilan seuranta.....	32
6.2	Säilyvyystutkimus.....	35
6.2.1	Mikrobiologiset tutkimukset.....	35
6.2.2	Fysikaaliset ja kemialliset tutkimukset.....	38
6.3	Tulosten tarkastelua ja pohdintaa	40
6.3.1	Lämpötilan seuranta.....	41
6.3.2	Säilyvyystutkimus.....	41
7	JOHTOPÄÄTÖKSET.....	45
	LÄHTEET.....	47

LIITTEET

- 1 Mikrobiologisten vesinäytteiden säilyvyys
- 2 STM:n asettamat talousveden laatuvaatimukset ja -suositukset
- 3 Ohje lämpötilaloggerin käyttäjälle.
- 4 Mittaustulokset 5.-6.2.2013
- 5 Näytelähetysten tiedot
- 6 Säilyvyystutkimuksen mikrobiologiset tulokset
- 7 Mikrobiologisten tulosten yhteensopivuus
- 8 Säilyvyystutkimuksen nitraatti ja nitriitti tulokset
- 9 Säilyvyystutkimuksen pH ja KMnO_4 -luku tulokset
- 10 Säilyvyystutkimuksen rauta tulokset
- 11 Säilyvyystutkimuksen mangaani tulokset

1 JOHDANTO

Laboratorioverkoston laajentumisen seurauksena vesinäytteitä joudutaan kuljettamaan yhä pidempien matkojen päähän analysoitavaksi. Kuljettaminen sekä näytteenoton ja analysoinnin välinen aika asettaa vaatimuksia näytteiden säilyvyydelle, sillä siihen vaikuttavat monet tekijät, esimerkiksi näytteiden laatu, oikeat näyteastiat, näytteiden säilyvyysajat, näytteiden alttius valolle sekä kuljetuksen aikainen liike ja lämpötilaolosuhteet (EN ISO 5667-3: 2003, 1). Yhtä tärkeää on näytteiden oikea käsittely ennen analysointia, sillä oikein suoritetuilla toimenpiteillä voidaan varmistaa parhaiten näytteiden pysyminen muuttumattomana analysointiin asti.

Eurofins Viljavuuspalvelu Oy on vuonna 1952 perustettu maatalous- ja ympäristölaboratorio, jonka toiminta kattaa ympäristönhoidon- ja valvonnan sekä alkutuotannosta alkaen koko elintarvikeketjun tarvitsemat analyysipalvelut. Viljavuuspalvelu Oy:n laatujärjestelmä on sertifioitu SFS-EN ISO 9001:2008 mukaisesti sekä laboratorion päämittausmenetelmät ovat ISO 17025 mukaisesti akkreditoidut. Lisäksi yrityksen oma laadunvalvonta sekä kansalliset ja kansainväliset seuranta- ja vertailumittaukset varmistavat tulosten luotettavuuden. (Eurofins Viljavuuspalvelu Oy.)

Viljavuuspalvelun asiakaskunta koostuu suurimmaksi osaksi yksityisistä asiakkaista, mutta Viljavuuspalvelu tekee yhteistyötä monien yritysten ja kuntien kanssa. Viljavuuspalvelulla on palveluksessa koulutettuja ja erityisesti vesinäytteiden ottoon sertifioituja näytteenottajia. Osa vesinäytteistä tuodaan laboratorioon suoraan analysoitavaksi, mutta osa näytteistä saapuu laboratorioon matkahuollon tai postin kautta. Lisäksi asiakkailla on mahdollisuus käyttää näytteiden palautuspistettä, johon voi palauttaa näytteet vastaanottoaikojen jälkeen. Saapuneet näytteet kirjataan tietojärjestelmään, jolloin ne saavat tunnistenumeron. Tämän jälkeen näytteet käsitellään standardien mukaisesti. Viljavuuspalvelussa määritetään vesinäytteistä useita perusanalyyssejä. Yritys käyttää hyväksi myös alihankintaa, jolloin näytteitä lähetetään säilönnän ja esikäsittelyn jälkeen Eurofinsin muihin laboratorioihin analysoitaviksi.

Näytteiden kuljetuksessa voi esiintyä viiveitä, jolloin standardeissa esitetyt näytteiden säilyvyysajat ja lämpötilavaatimukset eivät toteudu. Tähän perustuen Eurofins Viljavuuspalvelu Oy halusi selvittää kokeellisen säilyvyystutkimuksen avulla, miten vesinäytteiden kemiallinen ja mikrobiologinen laatu muuttuu, jos näytteenoton ja ana-

lysoinnin välinen aika pidentyy. Samalla tutkittiin, onko kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen näytteiden pitoisuuksien välillä eroavaisuuksia. Lisäksi haluttiin selvittää lämpötilaloggereiden avulla, miten Viljavuuspalveluun saapuvien vesinäytteiden kuljetuksenaikaiset lämpötilaolosuhteet pysyivät standardien asettamien lämpötilavaatimusten mukaisina eri vuodenaikoina tapahtuvissa lähetyksissä.

Opinnäytetyössä ja säilyvyystutkimuksessa keskityttiin lähinnä talousvesiin ja erityisesti yksityisistä kaivovesistä yleisemmin tutkittaviin kemiallisiin ja mikrobiologisiin parametreihin, sillä yksityisten kaivovesien lähetyksissä katsottiin olevan suurimmat puutteet. Säilyvyystutkimukseen valitut parametrit olivat nitraatti (NO_3^-), nitriitti (NO_2^-), rauta (Fe), mangaani (Mn), pH, kaliumpermanganaattiluku (KMnO_4 -luku), *Escherichia coli* (*E.coli*) ja koliformiset bakteerit. Samalla kartoitettiin muita tärkeimpiä vesinäytteiden säilyvyyteen vaikuttavia tekijöitä. Opinnäytetyöstä rajattiin pois vesinäytteiden biologiset ja radiokemialliset analyysit sekä varsinaisen näytteenoton ohjeistaminen, sillä valvonta- ja seurantanäytteet otetaan lähes poikkeuksetta näytteenottoon perehdytettyjen tai sertifioitujen näytteenottajien toimesta. Tästä poikkeuksena ovat yksityiset asiakkaat ja heidän toimittamat vesinäytteet.

Opinnäytetyön aihe oli ajankohtainen, koska Viljavuuspalvelussa ei ole aikaisemmin selvitetty lämpötilan ja aikaviiveen vaikutusta näytteiden säilyvyyteen eikä koottua yhteenvetoa kuljetuksen aikaisista lämpötilaolosuhteista. Opinnäytetyöstä saatavaa tietoa tullaankin käyttämään hyväksi Viljavuuspalvelulle tehtävässä ohjeistuksessa, joka koskee vesinäytteiden logistiikkaa, näytteiden esikäsittelyä sekä näytteenoton ohjeistusta.

Opinnäytetyön ohjaajina toimivat Eurofins Viljavuuspalvelu Oy:n liiketoimintayksikön päällikkö Kalevi Koivunen ja Mikkelin ammattikorkeakoulun tuntiopettaja/laboratorioinsinööri Marjatta Lehesvaara. Haluan esittää ohjaajille sekä mikrobiologi Terhi Tuhkalaiselle suuret kiitokset opinnäytetyöhöni saamista neuvoista. Lisäksi haluan kiittää näytteenottajia sekä analyysieihin osallistuneita laborantteja tutkimuksieni saamasta avusta.

2 LAIN, ASETUKSEN JA STANDARDIN VAATIMUKSET

2.1 Vesinäytteiden säilymiseen vaikuttavat tekijät

Vesinäytteiden käsittelyyn liittyvästä aineistosta kerättiin tähän opinnäytetyöhön vesinäytteen laatuun ja säilymiseen vaikuttavia tekijöitä. Kansainvälisen standardin EN ISO 5667-3: 2012 taulukosta A 1 löytyvät yleiset ohjeet vesinäytteiden fysikaalis-kemiaalisiin ja kemiallisiin analyyseihin. Ohjeet koskevat käytettäviä näyteastioita, näytteen säilöntää ja säilytysolosuhteita sekä enimmäissäilytysaikoja. (EN ISO 5667-3: 2012, 11–29.) Yksityiskohtaisemmat ohjeet löytyvät menetelmäkohtaisista standardeista.

2.1.1 Näytteestä johtuvat muutokset

Vesinäytteiden sisältämät bakteerit, levät sekä muut eliöt voivat kuluttaa tiettyjä osia näytteestä. Nämä organismit voivat muuttaa näytteen aineosia myös uusiksi aineosiksi. Tällainen biologinen aktiivisuus aiheuttaa muutoksia muun muassa liuenneen hapen, hiilidioksidin, typpiyhdisteiden, fosforien sekä joskus piin pitoisuuksiin. Näytteessä olevan hapen tai ilmakehän hapen läsnä ollessa muun muassa orgaaniset yhdisteet, Fe(II) ja sulfidit voivat hapettua. Samalla tavalla ilmasta imeytyvä hiilidioksidi voi muuttaa vesinäytteen pH-arvoa, sähkönjohtokykyä tai liuenneen hiilidioksidin pitoisuutta. (EN ISO 5667-3: 2012, 5–6.)

Tiettyt aineet, kuten metallit, metalliset yhdisteet ja kalsiumkarbonaatti, voivat saostua liuoksesta tai kadota höyryfaasina ilmaan, kuten esim. happi, syanidit ja elohopea. Samoin liuenneet metallit tai kolloidisessa muodossa olevat metallit sekä tietyt orgaaniset yhdisteet voivat peruuttamattomasti imeytyä astian pintaan tai muodostaa kiinteitä aineita näytteeseen. Tiettyjen aineosien muutoksien aste ja nopeus vaihtelevat, ei ainoastaan vesityypin, vaan myös vuodenaikojen olosuhteiden mukaan. (EN ISO 5667-3: 2012, 5–6.) Makeat vedet ja pohjavedet ovat vähemmän alttiita biologisille ja kemiallisille reaktioille. Vastaavasti jätevesissä on runsaasti biologista toimintaa, joka voi aiheuttaa muutoksia jo hyvin lyhyessä ajassa. (EN ISO 5667-3: 2003, 2.)

Vesinäytteiden sisältämien bakteerien reaktiot ovat suhteessa lämpötilaan 0 °C:n ja 45 °C:n välillä. Jos mikrobistolla on taipumusta lisääntyä vedessä, lisääntymisnopeus on sitä suurempi mitä korkeampi on lämpötila. Vastaavasti mikrobisto voi kuolla säilytyksen edetessä, jolloin kuoleminenkin on nopeampaa lämpimissä olosuhteissa. Ylei-

senä oletuksena bakteriologiassa voidaan pitää oletusta $Q_{10}=2$. Tämä tarkoittaa sitä, että kymmenen asteen nousu veden lämpötilassa lisää lisääntymis- ja kuolemisnopeutta kaksinkertaiseksi. Lisäksi näytteiden jäätyminen voi tappaa valtaosan (> 99 %) soluista. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 28.)

2.1.2 Näyteastiat

Näyteastioiden valinnassa tulee ottaa huomioon niiden soveltuvuus tutkittaviin analyysihin. Sopimattomat näyteastiat voivat muuttaa näytteiden pitoisuuksia reagoimalla näytteiden sisältämien analyyttien kanssa tai sitomalla niitä astioiden pintaan. Korkkien vuorausmateriaalien valinnassa tulee ottaa huomioon samat näkökohdat kuin näyteastioidenkin valinnassa, sillä jotkin värilliset korkit voivat sisältää merkittäviä pitoisuuksia raskasmetalleja. Tämän vuoksi on tärkeää käyttää kulloinkin kyseiseen analyysiin soveltuvia näyteastioita, jotka on käsitelty ja pesty analyysikohtaisten ja standardien asettamien vaatimusten mukaisesti. Näyteastioiden valinnassa tulee ottaa huomioon myös lämpötilan vaihtelut sekä astioiden kestävyys, tiiviys, koko ja paino. Käytettävien astioiden soveltuvuus analyysihin ja näytteiden säilöntään tulee testata määrittämällä nollanäytteitä ennen astioiden käyttöönottoa. (EN ISO 5667-3: 2003, 2–3.)

Vesinäytteiden mikrobiologisiin tutkimuksiin käytetään puhtaita, steriilejä näytepulloja, joiden vähimmäistilavuus on 250 ml. Joissakin tapauksissa tarvitaan tilavuudeltaan suurempia näytepulloja (esim. pulloitetun veden testaaminen, *Salmonella spp.*-tutkimukset yms.). Kaikkien steriloitujen pullojen tulee olla jäljitettävissä sterilointipäivän mukaan. Samalla laboratorion tulee varmistaa sterilointiprosessin onnistuminen kemiallisten tai biologisten indikaattorien avulla. Vaihtoehtoisesti mikrobiologisten näytteiden otossa voidaan käyttää kaupallisia valmiiksi steriloituja pulloja, joiden mukana on sterilointitodistus. Näidenkin pulloerien steriilisyys tulisi testata standardissa SFS-EN ISO 19458 esitetyillä menetelmillä. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 10, 12, 14, 16.) Yleensä suositellaan käytettäväksi läpinäkyviä näytepulloja, erityisesti uimarantavesien näytteenotossa, jolloin voidaan tehdä havaintoja näytteen ulkonäöstä (SFS 3951: 1984, 1).

Mikäli sterilointi ei ole mahdollista, lasipullot ja korkit voidaan desinfioida upottamalla ne avonaisena kiehuvaan veteen vähintään 30 minuutiksi. Kiehuttamisen jälkeen

pullot tyhjennetään välittömästi ja suljetaan kiehutetuilla korkeilla. Tämän jälkeen näytepullot kääritään puhtaaseen paperiin ja jäähdytetään ennen näytteenottoa. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 14.) Edellä mainittu käsittelyohje soveltuu käytettäväksi yksitystisten asiakkaiden ottamiin vesinäytteisiin silloin, kun asiakkaalla ei ole mahdollisuutta hakea valmiiksi steriloituja näytepulloja.

Hapettimilla (esim. kloori, kloramiini, bromi tai otsoni) desinfioitujen vesinäytteiden mikrobiologisissa tutkimuksissa käytetään näytepulloja, joihin on yleensä jo steriloinnin yhteydessä lisätty pelkistimeksi natriumtiosulfaattiliuosta. Pelkistimen läsnäolo pysäyttää desinfioinnissa käytettävän hapettimen toiminnan. Natriumtiosulfaatilla ei ole vaikutusta näytteeseen, joten sitä voidaan käyttää myös klooraamattomissa vesinäytteissä. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 14.)

2.1.3 Kuljetus

Näytteiden säilytysastiat tulee merkitä selkeästi jo ennen näytteiden ottamista tai välittömästi näytteenoton jälkeen. Fysikaalisia ja kemiallisia määrittelyjä varten näyteastiat otetaan yleensä täyteen. Tämä vähentää ilman vuorovaikutusta näytteeseen ja vähentää näytteen kuohuntaa kuljetuksen aikana. Näyteastiat tulee sulkea ja sinetöidä kuljetuksen aikana siten, että niiden sisältö ei missään tilanteessa pääse kosketuksiin ympäristön kanssa. Käytettävien paketointimateriaalin tulee suojata näytteitä estäen näyteastioiden hajoaminen ja ulkopuolisten saasteiden pääsyn astioihin. (EN ISO 5667-3: 2003, 4, 9.)

Standardissa EN ISO 5667-3: 2012 suositellaan fysikaalis-kemiallisten ja kemiallisten näytteiden viilentämistä heti näytteen ottamisen jälkeen $+5 \pm 3$ °C:een lämpötilaan. Näytteiden viilentämisessä noudatetaan laboratoriosta saatuja menettelyohjeita. (EN ISO 5667-3: 2012, 7). Samoin standardin SFS-EN ISO 19458 mukaan mikrobiologisiin tutkimuksiin otetut näytteet tulee kuljettaa valolta suojattuna sekä jäähdytettynä alle $+10$ °C:seen. Ihanteellisena lämpötilana voidaan pitää jäähdyttämistä $+5 \pm 3$ °C:n lämpötilaan. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 26, 28.) Näytteiden lämpötilatavoitteen saavuttamisajasta ei löytynyt selkeää ohjeistusta. Standardin SFS 3951 mukaan suositellaan näytteiden viilentämistä esim. kylmävaraajien avulla lämpötilaan $+2$ – $+8$ °C, mikäli kuljetusaika ylittää neljä tuntia (SFS 3951: 1984, 2). Samoin Mäkelän ym. (1992) mukaan kuljetuksen kestäessä yli neljä tuntia, näytteet suositellaan jäähdytettäväksi $+4$

± 2 °C:een lämpötilaan (Mäkelä ym. 1992, 17). Näin ollen suositeltavana tavoitelämpötilan saavuttamisaikana pidentyneissä näytelähetyksissä voinee pitää enimmillään neljää tuntia, erityisesti näytteillä, joita ei analysoida saman työpäivän aikana. Mikäli näytteiden kuljetus kestää yli 8 tuntia, lämpötilaa tulee seurata ja kuljetusolosuhteet dokumentoida (SFS-EN ISO 19458: 2007, 26).

Näytteet on pakattava siten, että ne eivät pääse kuljetuksen aikana jäätymään. Näytteiden sekaan sijoitettavat kylmävaraajat eivät saa olla suorassa kosketuksessa näytteiden kanssa. Lisäksi lämpimät ja kylmät näytteet tulee kuljettaa erillään. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 26.)

Näytteen kuljettamisessa on huomioitava myös, että pieni määrä jäätä ei riitä viilentämään suurta määrää lämmintä vettä (EN ISO 5667-3: 2003, 5). Tällöin vesinäytteiden lämpötila ei saavuta heti kylmälaukkuun laitettaessa suositeltavaa kuljetuslämpötilaa ($+5 \pm 3$ °C). Lämpötilan tasaantumiseen vaikuttaa jään/keinojääpakkauksien määrän, tilavuuden ja sijainnin lisäksi, vesinäytteiden massa ja alkulämpötila, ulkolämpötila sekä kylmälaukkujen tilavuus ja ominaisuudet. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 28.)

2.1.4 Säilytys

Fysikaalisiin ja kemiallisiin tutkimuksiin menevät näytteet tulisi analysoida tai viilentää välittömästi niiden saavuttua laboratorioon. Monessa tapauksessa näytteiden säilyttäminen välillä $+1$ – $+5$ °C onkin riittävää, mikäli näytteet analysoidaan 24 h kulussa. Viilentäminen soveltuu hyvin makeille vesille ja pohjavesille, koska nämä vedet ovat vähemmän alttiita biologisille ja kemiallisille reaktioille. Viilentäminen ei kuitenkaan sovellu näytteiden pitkäaikaiseen varastointiin, varsinkaan jätevesille. Kunnan tai teollisuuden jätevedenpuhdistamojen jätevedet tulee kestävöidä välittömästi näytteenoton jälkeen, koska näytteissä on runsaasti biologista toimintaa. Näytteen säilytyksissä tulee ensisijaisesti noudattaa menetelmäkohtaisissa standardeissa esitettyjä säilytysaikoja. (EN ISO 5667-3: 2003, 2, 5.)

Pitkäaikaista säilöntää varten kemiallisiin tutkimuksiin menevät näytteet voidaan pakastaa alle -20 °C:een lämpötilaan. Pakastettavien näytteiden näyteastioina käytetään muovisia näyteastioita (esim. polyvinyylidikloridi tai polyeteeni), jotka on näytettä kerättäessä jätetty hieman vajaaksi. Joillekin määrityksille (esim. ravintoaineet) nopea

pakastaminen on yleinen käytössä oleva säilöntämenetelmä. Pakastaminen ei kuitenkaan sovellu näytteille, joista määritetään haihtuvia aineita. Pakastamista ei voida käyttää myöskään soluja, bakteereita tai mikroleviä sisältäville näytteille, joiden solujen rakenteille pakastaminen on vahingollista. (EN ISO 5667-3: 2003, 5.)

Standardin SFS-EN ISO 19458 mukaan mikrobiologiset näytteet tulee analysoida mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, mieluiten jo saman työpäivän aikana, sillä näytteenoton ja analysoinnin aloittamisen välinen aikaviive voi heikentää tulosten luotettavuutta. Näytteenottajien ja laboratorion tulee tehdä yhteistyötä, jotta voidaan pitää minimissä sellaisten näytteiden määrä, jotka testataan vasta näytteenottoa seuraavana päivänä. Vesinäytteiden analysoinnissa noudatetaan ensisijaisesti voimassa olevia menetelmäkohtaisia standardeja ja niissä esitettyjä säilytysaika-suosituksia. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 28.)

Muun muassa koliformisten bakteerien kokonaismäärän määrittämisessä käytettävän standardin SFS 3016 sekä lämpökestoisten koliformisten bakteerien lukumäärän määrittämisessä käytettävän standardin SFS 4088 mukaan näytteiden analysoinnin tulisia alkaa kuuden tunnin kuluessa näytteenotosta, jos näytteitä säilytetään ympäristön lämpötilassa (pimeä, ei yli +25 °C). Näytteitä on sallittua pitää poikkeuksellisissa olosuhteissa (+5 ±3 °C) jopa 24 h ennen näytteen analysointia. (SFS 3016: 2011, 4; SFS 4088: 2001, 4.) Vastaavasti IDXX Colilert® -menetelmän mukaan talousvesien näytteenoton ja analysoinnin välinen aika ei saa ylittää 30 tuntia ja juomakelvottomille vesille aikaviive ei saa ylittää 6 tuntia (IDEXX 2003, 2).

Liitteessä 1 on lueteltuna standardin SFS-EN ISO 19458 mukaiset vesinäytteistä yleisimmin analysoitavat bakteerit sekä niiden suuntaa antavat näytteen säilytyksen enimmäisajat ja säilytyslämpötilat (liite 1). Kyseinen yhteenveto on tehty standardiin kirjallisuudesta saatujen tietojen perusteella. Näytteiden säilytysaika-suosituksiin vaikuttaa oleellisesti vesityyppi, mikro-organismien fysiologinen tila (esim. desinfiointi tai ei) sekä testausmenetelmä. (SFS-EN ISO 19458, 28, 36).

Maksimaalinen suositeltu säilytysajanjakso ennen analyysin aloittamista alkaa välittömästi näytteenoton jälkeen. Näytteiden kuljetus- ja säilöntäajan ylittyessä, näytteiden analysoinnista tulee keskustella asiakkaan kanssa. Mikäli näytteet päädytään tutkimaan, tulee pidentynyt säilytysaika ilmoittaa lausunnossa. Samoin asiakkaille anne-

tuissa tuloksissa tulee ottaa huomioon pidentyneen säilyvyysajan vaikutus näytteen pitoisuuksiin. (EN ISO 5667-3: 2003, 8.) Standardi SFS-EN ISO 19458 mukaan vesinäytteiden mikrobiologisissa tuloksissa tulisi olla säilytysaikasuositusten ylittymisen jälkeen merkintä siitä, että ne on saatu n tunnin kuluttua näytteenotosta (SFS-EN ISO 19458: 2007, 28).

2.1.5 Kestävöinti

Kestävöinnin tarkoituksena on hidastaa näytteessä tapahtuvia kemiallisia ja biologisia muutoksia. Käytössä olevat kestävöintitavat riippuvat sekä tutkittavasta aineesta että määritysmenetelmästä. Kestävöintimenetelmistä yleisesti käytettäviä ovat pH-arvon säätö, kemikaalilisäykset ja jo luvussa 2.1.4 mainittu pakastus. (Mäkelä ym. 1992, 16.)

Kestävöintiaineita voidaan lisätä joko etukäteen tyhjään astiaan tai suoraan näytteesseen näytteenoton jälkeen. Esimerkiksi hapen, kokonaissyänyidin ja sulfidin määrittäykseen otettavat näytteet vaativat säilöntäreagenssin lisäämisen jo näytteenottopaikalla. Käytettävät kestävöintiaineet eivät saa häiritä näytteistä tehtäviä analyysejä. Näytteiden laimentuminen säilöntäaineita käytettäessä tulee ottaa myös huomioon tuloksia laskettaessa. Näin ollen näytteiden kestävöintiin on parempi käyttää väkeviä liuoksia, jotta vain pieniä tilavuuksia tarvitsee lisätä näytteeseen. Säilöntäaineita lisättäessä tulee varmistua siitä, että säilöntäreagenssit eivät pääse saastuttamaan muihin tutkimuksiin otettuja näytteitä. Esimerkiksi typpihappo voi saastuttaa nitraattimäärittäykseen otetun näytteen. (EN ISO 5667-3: 2003, 6, 9.)

Kestävöintiaineiden lisääminen voi muokata tai muuttaa näytteen aineosien kemiallista tai fysikaalista luonnetta. Esimerkiksi hapottaminen (kestävöinti) voi liuottaa näytteen kolloidisia aineosia tai kiintoainetta. Mikäli analyysin tavoitteena on määrittää näytteen sisältämiä liuenneita aineosia, tulee näyte suodattaa ennen säilöntäaineen lisäämistä näytteeseen. (EN ISO 5667-3: 2003, 6.) Hapottamisella estetään myös metallien adsorboituminen (kiinnittyminen) astian seinämiin sekä rajoitetaan vesinäytteen biologista toimintaa. Biologista toimintaa voidaan rajoittaa myös eräillä myrkyllisillä kemikaaleilla (esim kupari(II)sulfaatilla) sekä pakastamalla näyte. (Mäkelä ym. 1992, 16.)

Jotkin kaupalliset hapot voivat sisältää merkittäviä määriä arseenia, lyijyä ja elohopeaa. Uuden hapon nollanäytteiden hivenainepitoisuudet olisi hyvä määrittää ennen liuoksen käyttöön ottamista. Kestävöintiin käytettävät reagenssit tulee muutoinkin tarkastaa huolellisesti, koska reagenssien saastuminen saattaa joskus ilmetä värin muuttumisena. Mikäli saastumista on syytä epäillä, tulee kyseiset reagenssit poistaa käytöstä. (EN ISO 5667-3: 2003, 6, 8.)

Kestävöityihin näytteisiin on tärkeää kirjata muistiin lisättyjen kestävöintiaineiden tyypit ja määrä. Kaikkien käytettävien reagenssien tulee olla analyysipuhdasta laatua ja reagenssien valmistamiseen käytettävän veden tulee täyttää vähintään standardin ISO 3996:1987 luokan 2 puhtaus. Lisäksi kaikissa reagensseissa tulee olla merkittynä aineen säilyvyysaika, jota ei saa ylittää. (EN ISO 5667-3: 2003, 6, 9.)

2.2 Laboratoriot

Monet lait asettavat vaatimuksia vesinäytteitä tutkiville laboratorioille. Terveysturvallisuuslain 763/1994 49. §:n mukaan viranomaisille tarkoitetut vesitutkimukset tulee tehdä Elintarviketurvallisuusviraston hyväksymässä laboratoriossa. Tutkimuksia tekevällä laboratoriolla tulee olla kirjallinen laatujärjestelmä, ja laboratorion on pystyttävä osoittamaan tekemiensä määritysten luotettavuus. Laboratoriolla tulee olla tutkimuksen suorittamiseen tarvittava asiantuntemus ja tekniset valmiudet. (Terveysturvallisuuslaki 763/1994.) Muissa EU:n jäsenmaissa sijaitsevien laboratorioiden ei tarvitse hakea Eviran hyväksyntää, vaikka niissä tarjottaisiin esim. viranomaisten tarvitsemia analyysipalveluita. Laboratorioiden ja niissä tehtävien tutkimuksien tulee täyttää Suomen kansallisen lainsäädännön asettamat vaatimukset. Ulkomaisia laboratorioita käytettäessä vaatimusten arviointi on toimeksiantajan vastuulla. (Evira 2012.)

Laboratorion tekemien määritysten luotettavuus perustuu laadunvarmistukseen, joka on osoitettu akkreditoinnilla SFS-EN ISO 17025 standardin tai vastaavan mukaan. Suomessa laboratorioiden pätevyyden arvioi SFS-EN-standardin 45003 mukaiset edellytykset täyttävä akkreditointielin, kuten Mittatekniikan keskuksen FINANS (The Finnish Accreditation Service) -yksikkö. (STM:n asetus 173/2001, 4 §, 5 §.) Lisäksi sosiaali- ja terveysministeriön (STM:n) asetuksen 461/2000 mukaan valvontatutkimuksissa on käytettävä SFS-EN-standardien mukaisia määritysmenetelmiä tai niiden puuttuessa ISO-standardien mukaisia määritysmenetelmiä, taikka sellaisia menetel-

miä, jotka määrittystarkkuudeltaan ja luotettavuudeltaan vastaavat vähintään näitä menetelmiä. Käytettäessä muita kuin edellä mainittuja standardimenetelmiä tulee ne ilmoittaa tulosten ilmoittamisen yhteydessä. (STM:n asetus 461/ 2000, 12 §.)

2.3 Talousvedestä tehtävät tutkimukset ja niiden laatuvaatimukset

Talousvedeksi kutsutaan vettä, jota elintarvikeyritykset käyttävät tuotteiden valmistuksessa sekä kotitaloudet juomavetenä ja ruoan valmistuksessa. Vastaavasti talousvettä toimittavia laitoksia ovat kaikki laitokset, jotka jakavat vesijohtovettä tai pakkaavat säiliöissä tai pulloissa myytävää vettä. (Valvira.) STM:n asetuksen 461/2000 1. § antaa yleiset määräykset talousveden laatuvaatimuksista sekä tarvittavista tutkimuksista. Kyseistä asetusta käytetään yli 50 henkilön käyttöön tarkoitetulle talousvedelle eli käytännössä kaikelle vesilaitosten jakamalle vedelle (Sojakka & Välimäki 2011, 276). STM:n asetus 401/2001 on tarkoitettu oman kaivon vettä talousvetenä käyttäville yksittäisille talouksille sekä laitoksille, jotka toimittavat vettä vähemmän kuin 10 m³ päivässä taikka alle 50 henkilön tarpeisiin. Tätä asetusta käytetään elintarvikealan yrityksessä, johon talousveden laadunvalvonnassa ja valvontatutkimuksissa ei kunnan terveydensuojeluviranomaisen päätöksen nojalla sovelleta talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista annetun sosiaali- ja terveysministeriön asetuksen (461/2000) vaatimuksia. (STM:n asetus 401/2001, 1 §.)

Asetusten mukaan talousvedessä ei saa olla pieneliöitä tai loisia tai mitään aineita sellaisina määrinä tai pitoisuuksina, joista voi olla vaaraa ihmisten terveydelle. Talousveden on oltava myös muuten käyttötarkoitukseensa soveltuvaa, eikä se saa aiheuttaa haitallista syöpymistä tai haitallisten saostumien syntymistä vesijohdoissa, kiinteistön omissa laitteissa taikka vedenkäyttölaitteissa. (STM:n asetus 461/2000, 4 §; STM:n asetus 401/2001, 3 §.) Liitteeseen 2 on taulukoitu opinnäytetyössä tutkittavien parametrien STM:n asetuksien 461/2000 ja 401/2001 mukaiset talousvesien laatuvaatimukset ja -suositukset (liite 2).

3 KAIVOVESISTÄ TUTKITTAVAT PARAMETRIT

3.1 Koliformiset bakteerit ja *E.coli*

Talousveden hygieenistä ja terveydellistä laatua seurataan tiettyjen indikaattori mikrobien avulla (Salkinoja-Salonen 2002, 433). Näihin indikaattori mikrobeihin kuuluu koliformisten bakteerien ryhmä, joka muodostuu monista *Enterobacteriaceae*-heimoon kuuluvista suvuista (Sojakka & Välimäki, 2011, 279). Koliformiset bakteerit ovat fakultatiivisesti anaerobisia (voivat elää hapettomissa ja hapellisissa olosuhteissa), gram- ja oksidaasi- negatiivisia sauvoja, jotka eivät muodosta itiöitä. Koliformisten bakteerien ryhmä jaetaan kokonaiskoliformisiin ja fekaalisiin koliformisiin bakteereihin niiden lämpökestoisuuden mukaan. Näistä koliformisten bakteerien ryhmään kuuluvat bakteerit pystyvät pilkkomaan laktoosia tuottaen kaasua ja happoa 48 tunnissa 36 °C:ssa ja lämpökestoiset koliformit myös 44 °C:ssa. Fekaalisiin koliformisiin bakteereihin kuuluva *E.coli*-bakteeri tuottaa lisäksi indolia tryptofaanista 24 tunnissa 44 °C:ssa ja niillä on b-glukoronidaasi-entsyymi. (Pitkänen 2003, 15.) Koliformisten bakteerien määrittäminen perustuukin edellä kuvattuihin bakteerien ominaisuuksiin (Sojakka & Välimäki, 2011, 279). Talousvesissä, erityisesti yksityisissä kaivovesissä, ja vesistövesissä yleisesti käytettyä Colilert-testiä kuvataan tarkemmin luvussa 4.1.

Koliformiset bakteerit kuuluvat niin ihmisillä kuin eläimilläkin suoliston normaali-mikrobistoon. (Sojakka & Välimäki, 2011, 279). Ne voivat lisääntyä myös maassa ja jätevesissä, minkä takia niitä käytetään muun muassa pintavesien aiheuttaman kaivoveden pilaantumisen arviointiin sekä vesijohtoveden desinfioinnin puutteellisuuden ja vedenottamon tai vesijohtoverkon saastumisen selvittämiseen. Vastaavasti *E.coli* kuuluu fekaalisiin koliformisiin bakteereihin, ja sitä käytetään ulosteperäisen saastumisen ilmentäjänä. (Opetushallitus a.)

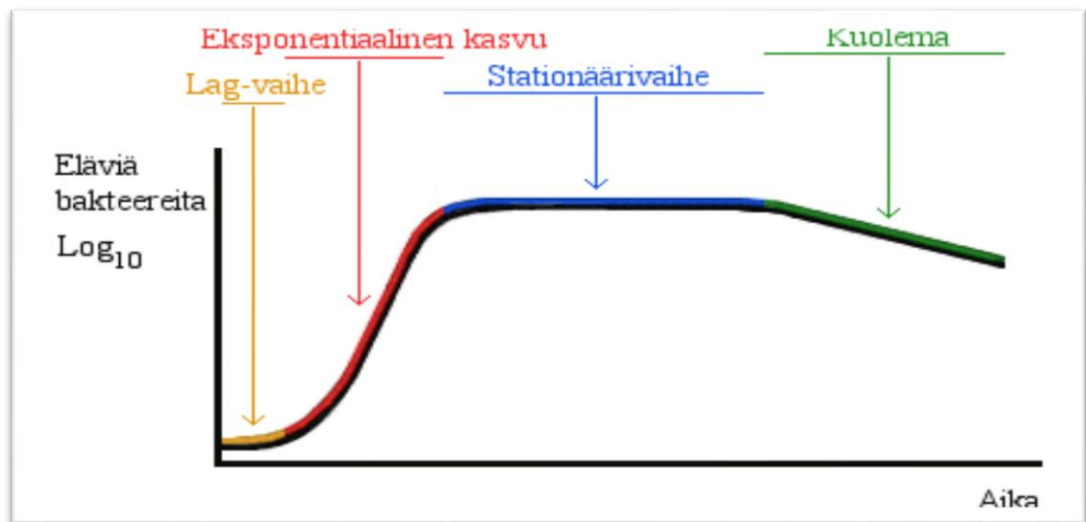
Bakteerien lisääntymiseen vaikuttavat monet ympäristön fysikaaliset ja kemialliset olosuhteet, kuten happipitoisuus, lämpötila, veden saatavuus ja pH (Solunetti a). Mikrobit tarvitsevat kasvuunsa myös orgaanisessa tai epäorgaanisessa muodossa olevaa hiiltä, fosforia, typpeä ja rikkiä. Vedessä olevien ravinteiden määrä vaikuttaa oleellisesti mikrobikasvuun sekä mikrobien väliseen kilpailuun. (Hokajärvi ym. 2008, 48.)

Pitkäsen (2002) mukaan suurimman osan vuodesta viileänä pysyvissä Suomen luonnonvesissä parhaiten pystyvät kasvamaan mikrobit, joiden kasvun optimilämpötila on noin +4 °C–+20 °C. Näin ollen heterotrofisten (toisenvaraisten) mikrobien kasvu ja siitä syntyvä kilpailutilanne voi heikentää taudinaiheuttajien säilyvyyttä, sillä suolistoperäiset mikrobit eivät yleensä lisäännä vedessä. Toisaalta useissa tutkimuksissa on

todettu suolistomikrobien säilyvän paremmin vedessä elinkykyisinä alhaisissa kuin korkeissa lämpötiloissa. (Hokajärvi ym. 2008, 45.)

Jokaisella bakteerilla on sille ominainen kasvulämpötila-alue, jossa bakteerit pystyvät lisääntymään. Vastaavasti lämpötila-alueen maksimi- ja minimilämpötiloissa kasvu pysähtyy. Bakteerikasvun hidastuminen noudattaa verrattain tarkoin Van't Hoffin reaktiokinetiikan periaatetta, jonka mukaan kasvunopeus lähes puolittuu jokaista kymmenen asteen lämpötilan laskua kohti. (Salkinoja-Salonen 2002, 191, 193–194.) *E.coli*-bakteeri on tyypillinen mesofiili (elää keskilämpötilassa), sillä sen optimilämpötila on +39 °C, minimilämpötila +4 °C ja maksimilämpötila +48 °C (Solunetti c).

Optimaalisissa olosuhteissa bakteerien lisääntyminen noudattaa eksponentiaalista kasvua, jossa niiden lukumäärän logaritmi lisääntyy lineaarisesti ajan funktiona. Viivevaiheessa (lag-vaihe) solupopulaatio sopeutuu ympäristön olosuhteisiin mm. valmistamalla kasvuun tarvittavia entsyymejä. Eksponentiaalisen kasvun vaiheessa bakteerien lukumäärä moninkertaistuu nopeasti. Tähän vaikuttaa bakteerien ominaisuuksien lisäksi myös monet ympäristötekijä, kuten lämpötila. Stationäärivaihe kasvulle saavutetaan, kun bakteerien aineenvaihdunnan haitalliset lopputuotteet estävät solujen kasvua tai jokin bakteerien kasvulle tärkeä ravintoaine on kulutettu loppuun. Tälle vaiheelle on tyypillistä bakteerien kasvun hidastuminen tai pysähtyminen. Stationäärivaiheessa bakteerien lukumäärä pysyy vakiona, sillä soluja syntyy ja kuolee yhtä paljon. Mikäli solupopulaatiota pidetään stationäärivaiheen saavuttamisen jälkeen samassa kasvatusliuoksessa, solut alkavat kuolla saavuttaen kuolinvaiheen. Tällöin solujen kuolema tapahtuu eksponentiaalisesti, mutta hitaammin kuin niiden eksponentiaalisessa kasvuvaiheessa. (Solunetti b.) Kuvassa 1 on esitetty bakteerien kasvuvaiheet ajan funktiona.



KUVA 1. Bakteerien kasvunvaiheet ajan funktiona (Solunetti b)

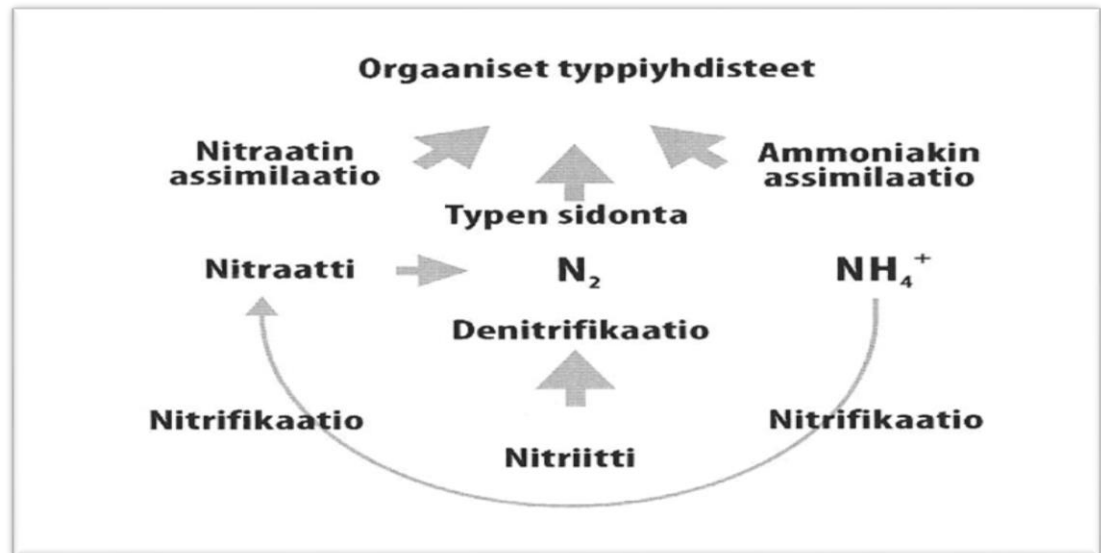
STM:n asetuksien 461/2000 ja 401/2001 mukaiset laatuvaatimukset talousveden *E.coli*-pitoisuudelle ovat 0 pmy (pesäkettä muodostavaa yksilöä)/100 ml näytettä. Vastaavasti koliformisten bakteerien laatusuositus edellä mainituille STM:n asetusten mukaisille talousvesille on 0 pmy/100 ml näytettä. Poikkeuksena tästä ovat yksityiset kaivovedet, joiden enimmäispitoisuus koliformisille bakteereille on < 100 pmy/100 ml näytettä. (Liite 2.)

3.2 Typen kierto, nitraatti ja nitriitti

Typen kiertokulku luonnossa on täysin riippuvainen mikrobien toiminnasta, sillä mikrobit sitovat ilmakehän typpeä ja muuttavat epäorgaanisen typen orgaaniseen muotoon. Epäorgaanista typpeä esiintyy luonnossa useammassa erilaisessa hapettumistasossa, kuten nitraattina (NO_3^-), nitriittinä (NO_2^-), ammonium-ionina (NH_4^+) ja molekulaarisena typpenä (N_2). Vastaavasti orgaanisia typpiyhdisteitä ovat muun muassa aminohapot. (Kuva 2.) Typen kiertokulkuun luonnossa vaikuttavat monet biologiset prosessit, kuten:

- kasvien ja mikrobien kyky muuttaa epäorgaanista kaasumaista typpeä, ammoniakkia ja nitraattia orgaaniseksi typeksi (esim. aminohapoksi)
- mikrobien kyky pilkkoa typpikaasu ammoniakiksi ja orgaaniseksi typeksi
- ammoniakin hapettuminen nitriitiksi ja nitraatiksi (nitrifikaatio) sekä

- nitraatin pelkistyminen typpioksiduuliksi ja kaasumaiseksi typeksi hapettomissa olosuhteissa (denitrifikaatio). (Chapman 1996, 77; Sojakka & Välimäki 2011, 242–243.)



KUVA 2. Typhen kiertokulkua luonnossa (Sojakka & Välimäki 2011, 242)

Nitraatti on tyypillinen vesistöissä esiintyvä yhdiste, joka voi pelkistyä hapettomissa olosuhteissa myös nitriitiksi. Nitraatin luonnollisia lähteitä ovat magmakivet, maankuivatus sekä kasvien ja eläinten hajoamistuotteet. Nitraatti on tärkeä vesikasvien ravinne. Vesistöissä esiintyvään vuodenaikojen väliseen nitraattipitoisuuksien vaihteluun vaikuttaa oleellisesti vesistöissä elävien kasvien kasvu ja hajoaminen. Nitraattia esiintyy luonnostaan myös pohjavesissä, johon orgaanisesta maa-aineksesta ja luonnonkasvillisuudesta huuhtoutuu nitraattia. Näin ollen pintaveden nitraatti- ja nitriitiarvojen mittaamisella saadaan perustietoa veden ravinteiden määrästä ja orgaanisista saasteista. (Chapman 1996, 79, 83.)

Nitraatin luonnolliset nitraattipitoisuudet ovat yleensä pieniä ($< 1 \text{ mg/l NO}_3\text{-N}$ / $< 4,43 \text{ mg/l NO}_3^-$). Vesistössä ja pohjavesissä tavatut kohonneet nitraattipitoisuudet ovatkin lähtöisin joko ihmisen tai eläinperäisen jätteen aiheuttamasta saastumisesta tai maataloudessa käytetyistä lannoitteista. Erittäin korkeiden nitraattipitoisuuksien esiintyminen on usein seurausta useita vuosia, jopa 20–30 vuotta kestäneestä peltojen lannoittamisesta. Maailman terveysjärjestö WHO on antanut suosituksen juomaveden nitraatin enimmäispitoisuudeksi 50 mg/l ($11,3 \text{ mg/l NO}_3\text{-N}$) ja sitä suuremmat pitoisuudet luokitellaan huomattavaksi terveysriskiksi. (Chapman 1996, 79.) Samoin STM:n ase-

tuksien 401/2001 ja 461/2000 mukainen laatuvaatimus talousveden nitraattipitoisuudelle on 50 mg/l (liite 2).

Talousvesien ja vesistövesien nitriittipitoisuus on yleensä erittäin matala (0,001 mg/l $\text{NO}_2\text{-N}$ / 0,003 mg/l NO_2^-). Korkea nitriittipitoisuus yhdistetään tavallisesti teollisuuspäästöihin ja huonoon vedenlaatuun. (Chapman 1996, 83.) Terveydelle haitallisen nitriitin esiintyminen talousvedessä on aina merkki joko vedenottamolla tai vesijohdoissa tapahtuvasta bakteeritoiminnasta (Sojakka & Välimäki 2011,243). Veden desinfioinnissa käytettävä kloramiini lisää nitriitin esiintymisen mahdollisuutta. Samoin nitriittejä havaitaan usein myös rautabakteerien esiintymisen kanssa. (BWT.)

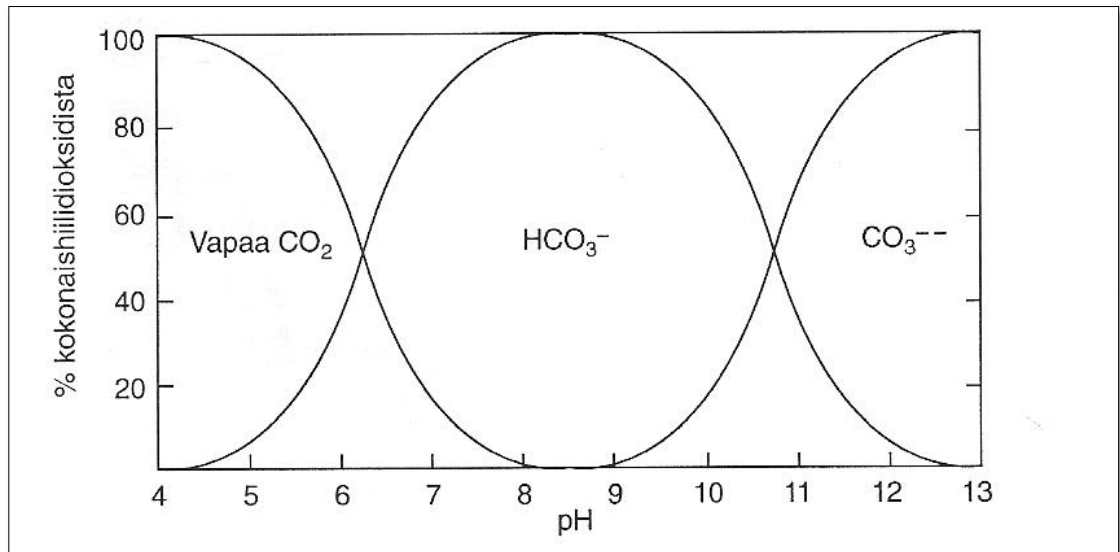
Nitraatin ja nitriitin aiheuttamat terveyshaitat kohdistuvat imeväisikäisiin lapsiin, joilla nitraatista muodostuva nitriitti voi synnyttää häiriöitä veren punasolujen happiaineenvaihduntaan (methemoglobinemia). Lisäksi on epäilty ruoansulatuselimistössä muodostuvan nitriitin osallisuutta mahalaukun ja virtsarakon syöpään. (BWT.) Terveydelle haitallisten ominaisuuksien vuoksi STM:n asetuksissa 401/2001 ja 461/2000 on annettu talousveden nitriittipitoisuudelle laatuvaatimus 0,5 mg/l sekä vesilaitokselta lähtevälle vedelle 0,10 mg/l (liite 2).

3.3 pH

pH-arvo mittaa liuoksen happotasapainoa ja se on määritelty vetyionikonsentraation negatiivisena, kymmenkantaisena logaritmina ($\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$). pH ilmoitetaan asteikolla 0–14 (hyvin happamasta hyvin alkaliseen), jossa pH 7 tarkoittaa neutraaleja olosuhteita. (Chapman 1996, 70.) Puhtaissa vesissä pH-pitoisuuden määrää pääasiassa tasapaino hiilidioksidin, karbonaatti- ja bikarbonaatti-ionien sekä muiden luonnollisten yhdisteiden, kuten humus ja humushapon määrä (Chapman 1996, 70).

Veden pH-arvon ollessa $< 4,5$, vedessä on lähes ainoastaan vapaata hiilidioksidia. Vastaavasti pH-arvon ollessa $> 8,3$, alkaa bikarbonaatin lisäksi esiintyä myös karbonaattia (CO_3^{2-}). Bikarbonaatin määrä vaikuttaa oleellisesti veden puskurointikykyyn eli ominaisuuteen vastustaa veden happamoitumista. (Särkkä 1996, 58.) Luonnollisen happotasapainon muutoksia aiheuttavat teollisuuden päästöt sekä ilmakehästä imeytyvät hapot. Pieniä pH-arvon muutoksia runsasravinteisiin vesiin voi aiheuttaa myös luonnolliset prosessit, kuten fotosynteesi ja leväkasvustossa tapahtuvat hiilidioksidi-

päästöt. (Chapman 1996, 70.) Kuva 3 esittää vapaan hiilidioksidin, bikarbonaatin ja karbonaatin esiintymisen riippuvuutta pH-arvosta.



KUVA 3. Vapaan hiilidioksidin, bikarbonaatin ja karbonaatin esiintymisen riippuvuus pH:sta (Särkkä 1996, 58)

pH on hyvin tärkeä muuttuja veden laadun arvioinnissa, sillä se vaikuttaa moniin vesistöissä havaittaviin biologisiin ja kemiallisiin prosesseihin sekä myös kaikkiin vedenjakeluun ja -käsittelyyn liittyviin toimenpiteisiin. (Chapman 1996, 70). Suomessa pinta- ja pohjavedet ovat lievästi happamia, sillä niiden pH on yleensä alueella 6–7. Happamuudesta johtuen vesilaitokset joutuvat käyttämään alkalointia raakavedenkäsittelyssä. Tällä estetään vedenjakelulaitteissa käytettävien materiaalien, kuten valuraudan, sinkityn teräksen, kuparin ja betonin syöpyminen sekä talousveden välityksellä saatavien metallien lisääntyminen talousveteen. Vesilaitoksen jakama talousvesi alkaloidaan pH alueelle 7,0–8,8. (Pönkä 2006, 259.) STM:n asetuksien 461/2000 ja 401/2001 mukainen laatusuositus talousveden happamuudelle on pH 6,5–9,5 (liite 2).

Talousvedessä pH voi korroosion lisäksi aiheuttaa myös terveydellisiä ongelmia erityisesti silloin, kun talousveden pH-arvo on yli 10,5. Tällöin vedessä havaitaan yleensä vaahtoamista tai outoa makua. Mikäli hyvin alkalista vettä juodaan, oireina voi esiintyä suun ja nielun limakalvojen kirvelyä sekä peseydyttäessä silmien ja ihon ärsytystä. Pienillä lapsilla terveydellisiä haittoja voi esiintyä jo huomattavasti alhaisemman pH:n yhteydessä, sillä lapsien mahahappojen määrä on vähäisempää ja vastaavasti nesteen kulutus painoon nähden suurempaa kuin aikuisella. (BWT.)

3.4 COD_{Mn} ja KMnO₄-luku

Talousveden kaliumpermanganaattiluku (KMnO₄-luku) kertoo vedessä olevien hapettuvien, pääasiassa orgaanisten aineiden kokonaismäärän eli suurimmaksi osaksi raakaveden humuksen määrän. Suomalaisille pintavesille on luonteenomaista korkea hapettavuus, sillä pintavettä käyttävien vesilaitoksien raakavesien KMnO₄-luku on yleensä 20–50 mg/l. Vastaavasti saastumattomien pohjavesien pitoisuus on vain 1–5 mg/l. (Pönkä 2006, 258.)

Veden humusta ei luokitella terveydelle haitalliseksi aineeksi, mutta se aiheuttaa veteen muita käyttöhaittoja. Esimerkiksi se aiheuttaa veteen väriä ja mutamaista makua sekä muodostaa keitetäessä saostumia. Suuri humuspitoisuus indikoi vesilaitosten jakamassa vedessä huonoa puhdistustehoa ja runsaasti humusta sisältävää raakavettä. Vesijohtoverkostoissa suuri humuspitoisuus suosii mikrobien jälkilisääntymistä. Lisäksi klooridesinfioinnin yhteydessä orgaanisista aineista syntyy verkostoveteen kloorattuja yhdisteitä, joiden tiedetään olevan haitallisia terveydelle. (Pönkä 2006, 258.) Klooratuista yhdisteistä mainittakoon muun muassa trihalometaanit, kuten kloroformi (Chapman 1996, 88–89). Kaivovesissä korkea humuspitoisuus kertoo yleensä pintavesien pääsystä kaivoon (Pönkä 2006, 258).

Vesinäytteiden sisältämän orgaanisen aineen määrä voidaan ilmoittaa kaliumpermanganaattilukuna, joka ilmoittaa hapen kulutuksen kaliumpermanganaattina. Vaihtoehtoinen tapa on käyttää termiä kemiallinen hapen kulutus eli hapettavuus, COD_{Mn}. Tällöin hapen kulutus ilmoitetaan happena (mg O₂/l). (Pönkä 2006, 258.) Talousveden orgaanisen aineen määrä ilmoitetaan STM:n asetuksen 461/2000 mukaisille vesille yleensä hapettavuutena ja sen laatusuosituksen mukainen enimmäispitoisuus on (COD_{Mn}-O₂) 5 mg/l. Vastaavasti STM:n asetuksen 401/2001 mukaisille vesille tulos ilmoitetaan KMnO₄-lukuna ja sen laatusuosituksen mukainen enimmäispitoisuus on (KMnO₄) 20 mg/l. (Liite 2.)

3.5 Rauta ja mangaani

Rauta (Fe) on hyvin yleinen metalli Suomen pohjavesissä sekä humukseen sitoutuneena myös pintavesissä. Rautaa voi liueta talousveteen jopa jakeluverkon ja -

laitteiden materiaaleista, mikäli materiaaleina on käytetty valurautaa ja terästä. (Pönkä 2006, 262.) Joissakin olosuhteissa voi vesijohtoverkostoihin syntyä mikrobikasvustoa, joka sitoo vedessä olevaa rautaa itseensä. Näin pienetkin rautapitoisuudet voivat aiheuttaa saostumia, jotka veden paineenvaihteluiden seurauksena lähtevät liikkeelle huonontaen samalla veden laatua. Saostumia voi syntyä vesijohtoverkoston jo 50 µg/l pitoisuuksissa. (BWT.)

Talousveden liiallinen rautapitoisuus ei ole terveydelle haitallista, mutta se aiheuttaa vedelle muita käyttöhaittoja. Korkea rautapitoisuus aiheuttaa veteen ruosteista makua ja ruostekerrostumia saniteetti- ja talouskalusteisiin, muodostaa sakkaa vesijohtoihin sekä ruostetahroja pestäviin vaatteisiin. Tähän perustuen raudalle on annettu STM:n asetusten 401/2001 ja 461/2000 mukaan laatusuosituksena enimmäispitoisuus 200 µg/l. Poikkeuksena tästä ovat yksityiset talousvesikaivot, joiden suositusraja-arvo on 400 µg/l. (Pönkä 2006, 262.)

Raudan käyttäytymiseen, erityisesti vesistövesissä, vaikuttaa veden pH, happipitoisuus sekä humuspitoisuus. Mikäli veden pH on 7, kaksiarvoinen ferrirauta saostuu kolmiarvoiseksi ferriraudaksi happipitoisuuden ollessa enemmän kuin 0,5 mg/l. Korkeammassa pH-arvossa (pH > 7) tarvitaan suurempaa happipitoisuutta raudan saostumiseen. Vastaavasti humuksen läsnä ollessa rauta voi olla liukenevassa muodossa, vaikka veden pH olisi alle 7 tai happea enemmän kuin 0,5 mg/l. Raudan liukoisessa muodossa esiintymiseen tarvitaan siten vedessä olevat lähes hapettomat olosuhteet ja hiili-dioksidi sekä veden pH arvon pysyminen alle 7,5. Vesistövesissä liiallinen rautapitoisuus saostuu ferrihydroksina järven pohjalle sekä saostuu kalan kiduksiin aiheuttaen kalakuolemia. (Särkkä 1996, 62.)

Suomalaisissa vesissä, etenkin pohjavesissä, esiintyy myös korkeita mangaanipitoisuuksia (Mn). Korkeat mangaanipitoisuudet ovatkin yleisimpiä vesilaitosten jakaman veden ja yksityisten kaivovesien laatuvirheitä. Mangaani aiheuttaa talousveteen makuhaittoja sekä samanlaisia käyttöhaittoja kuin rauta. Vedessä esiintyvä musta sakka on yleensä merkinä liian korkeasta mangaanipitoisuudesta. Saostumien syntyminen voi alkaa pitoisuuksien ollessa 20 µg/l ja värjäytymis- ja makuvirheiden syntyminen pitoisuudessa 100 µg/l. Eräät bakteerit (ns. mangaanibakteerit) ovat sopeutuneet elämään mangaanikerrostumissa ja ne voivat aiheuttaa veteen myös hajua ja sameutta. (Pönkä 2006, 261.) STM:n asetuksien 461/2000 ja 401/2001 mukainen laatusuositus

talousveden mangaanipitoisuudelle on 50 µg/l sekä yksityisille kaivovesille 100 µg/l (liite 2).

Mangaania ei ole aikaisemmin pidetty terveysriskinä. Uudet tutkimustulokset ympäri maailmaa osoittavat kuitenkin mangaanilla olevan yhteyttä lasten oppimis- ja käyttäytymishäiriöihin, alentuneeseen älykkyyssosamäärään ja hienomotoriseen kömpelyyteen. Vaikutukset ilmenevät 1–12-vuotiailla lapsilla mangaanipitoisuuden ylittäessä 100 µg/l. Vastaavasti aikuisilla juomaveden mangaanin on todettu aiheuttavan motoristen toimintojen hidastumista. Aikuisilla vaikutusten aikaan saamiseen tarvitaan huomattavasti suurempia mangaanipitoisuuksia kuin lapsilla. (Terveystieteiden tutkimuskeskus 2013.)

4 KÄYTETYT LAITTEET JA MENETELMÄT

4.1 Colilert® -testi

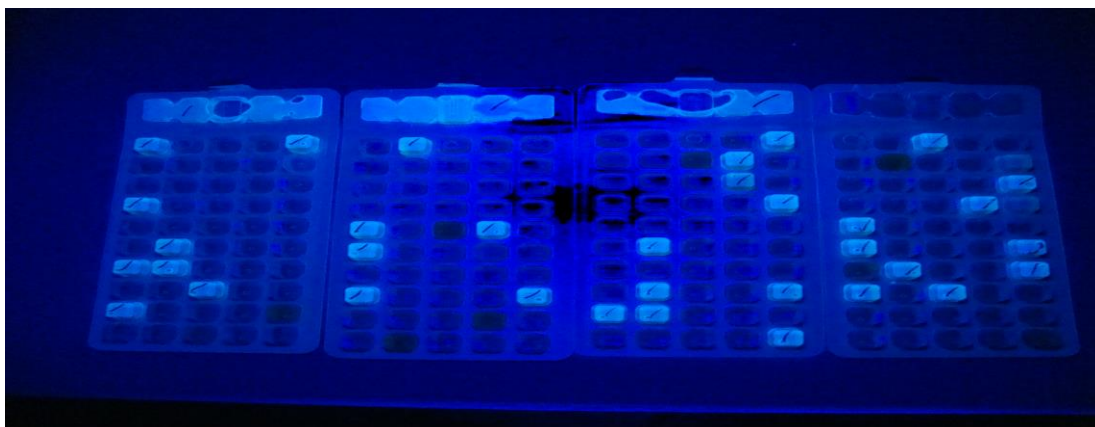
Viljavuuspalvelussa käytössä oleva Colilert® -testi perustuu valmistajan ohjeeseen: IDEXX Colilert® -Test Method for the Simultaneous Detection of Total Coliforms and *E.coli* in Water 2003. Testillä pystytään analysoimaan samanaikaisesti veden kolimuotoisten bakteerien kokonaispitoisuus sekä *E.coli*-bakteerien pitoisuus. Kyseistä menetelmää käytetään kolimuotoisten bakteerien ja *E.colin* määrittämiseen talous- ja luonnonvesistä sekä *E.colin* määrittämiseen uimarantavesistä. (Tuhkalainen 2008, 1.)

Käytettävä menetelmä perustuu edellä mainittujen bakteerien entsyymiaktiivisuuden mittaamiseen. Kun koliformiset bakteerit kasvavat Colilert-testiliukalla, β-galaktosidaasientsyymi hajottaa ONPG -substraatin, jolloin vapautuva yhdiste muuttaa värittömän kasvualustan keltaiseksi (kuva 4). (Tuhkalainen 2008, 1.)



KUVA 4. Colilert-testiliukalla kasvavat koliformiset bakteerit (Tirkkonen 2014)

E.colin kasvaessa Colilertissä, β -glukuronidaasientsyymi hajottaa MUG -substraatin, jolloin vapautuu UV-valossa (365 nm) fluoresoiva yhdiste (kuva 5). Muut mikrobit, joilla ei ole edellä mainittuja reaktioita aikaansaavia entsyymejä, eivät voi hajottaa testiliuskoissa olevia substraatteja, eivätkä näin ollen saa aikaan väri- ja fluoresenssi-reaktioita. (Tuhkalainen 2008, 1.)



KUVA 5. Colilert -testiliukalla fluoresoivat *E.coli* -bakteerit (Tirkkonen 2014)

Colilert-menetelmässä lisättiin 100 ml:aan huoneenlämpöistä näytettä (steriili pullo) Colilert® 18 -reagenssi ja näytettä sekoitettiin varovasti kunnes reagenssi oli kokonaan liuennut näytteeseen. Näytteeseen lisättiin kaksi tippaa Antifoam Solution-liuosta, jolla ehkäistiin liuoksen vaahtoaminen. Hyvin sekoitettu näyte kaadettiin Quanti-Tray® -liuskaan, josta poistettiin muodostuneet ilmakuplat ravistelemalla. Liuska suljettiin sulkijalaitteen avulla ja inkuboitiin $+35 \pm 0,5$ °C lämpökaapissa 18–22 h. Inkuboinnin jälkeen liuskasta laskettiin keltaisten kuplien lukumäärä (koliformit,) ja fluoresoivien kuplien lukumäärä (*E.coli*). Lopullinen kolimuotoisten bakteerien ja *E.coli* bakteerien pitoisuus saatiin selville katsomalla bakteereille ominaisten kuplien

lukumäärää vastaava pitoisuus MPN -taulukosta (pmy/100 ml). (Tuhkalainen 2008, 2.)

Mikrobit ovat eläviä organismeja ja niiden jakaantumisessa esiintyy luontainen määrä vaihtelua. (SFS-EN ISO 19458: 2007, 8). MPN (most probable number, todennäköisin lukumäärä) -taulukkoarvo on tilastollinen arvio mikrobiitiheydestä. Se perustuu todennäköisyyslaskentaan, jossa perusjoukon keskiarvo sijaitsee 95 %:n varmuudella taulukkoarvossa ilmoitetulla luottamusvälillä. (SFS-EN ISO 9308-3: 1999, 14; Karjalainen 2010, 103.)

4.2 Aquakem 250

Vesinäytteiden nitraatti- ja nitriittipitoisuudet määritettiin käyttämällä fotometristä Aquakem 250 -analysaattoria (kuva 6), jossa mittaus perustuu spektrofotometriaan. Spektrofotometriassa käytetään hyväksi aineelle ominaista absorptiomaksimia, eli sitä valon aallonpituutta, jolla aine parhaiten absorboi valoa (Teopal). Fotometriltä saatu absorbanssilukema (A) noudattaa *Lambert-Beerin lakia* (kaava 1) ja siihen vaikuttaa aineesta sekä aallonpituudesta riippuva molaarinen absorptiokerroin (ϵ), aineen pitoisuus (C) sekä säteilyn näytteessä kulkema matka (b). Näin ollen mitattavan aineen absorbanssi on sitä suurempi, mitä korkeampi on mitattavan liuoksen ainepitoisuus. (Teopal; Jaarinen & Niiranen 2000, 49–50.)

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda)Cb \quad (1)$$



KUVA 6. Aquakem 250 -analysaattori (Tirkkonen 2014)

Talousvesinäytteiden nitraatti ja nitriittityppipitoisuudet voitiin analysoida samanaikaisesti käyttämällä laitevalmistajan käyttövalmiita reagensseja. Mittauksissa käytettiin Eurofins Viljavuuspalvelu Oy:n validoitua mittaussuomenetelmää, joka perustuu laitevalmistajan (Thermo Fisher Scientific) antamiin menetelmäohjeisiin Nitrite Method 2008-09-05; Colorimetric method ja Total Oxidized Nitrogen; Colorimetric Vanadium chloride method sekä standardeihin SFS 3029/1976 (Veden nitriitin määrittäminen, sovellettu) ja SFS-EN ISO 11905-1 (Veden laatu. Tyypin määrittäminen. Osa 1: Peroksidisulfaattihapetus). Menetelmässä nitraatin määrittämissuorana oli 0,5 mg/l sekä laajennettu mittaussuopevarmuus pitoisuusalueella > 0,5 mg/l 11 %. Vastavasti nitriitin määrittämissuorana oli 0,01 mg/l sekä laajennettu mittaussuopevarmuus pitoisuusalueella 0,01–0,03 mg/l 25 % ja pitoisuusalueella > 0,03 mg/l 20 %. (Hokkanen 2012, 1, 9–10.)

Menetelmässä nitraattityppi pelkistettiin standardista SFS-EN ISO 11905-1 poiketen vanadiinikloridilla nitriittitypeksi. Nitriittityppi reagoi hyvin happamassa liuoksessa sulfaniiliamidin kanssa muodostaen diatsoyhdisteen. Tämä reagoi edelleen N-(1-naftyyli)-etyleenidiamiinin kanssa muodostaen vaaleanpunaisen atsoväriaineen, jonka absorbanssi mitattiin Aquakem-analysaattorilla aallonpituudella 540 nm. (Hokkanen 2012, 1.) Lopulliset tulokset nitraatiksi ja nitriitiksi (mg/l) laskettuina pystyttiin lukemaan suoraan tietokoneelta, sillä analysaattoria ohjaava tietokone käyttää hyväksi ohjelmaan tallennettuja kalibrointikuvaajia sekä menetelmään tallennettuja laskentaohjelmia.

4.3 Automaattiset titraattorit

4.3.1 pH

Veden pH-arvo määritettiin potentiometrisesti standardin SFS 3021 mukaisesti käyttämällä tietokoneelle tallennettua Tiamo 2.2 ohjelmaa, automaattista näytteenvaihtajaa Robotic USB Sample Processor XL sekä yhdistelmäelektrodia 6.0257.000 (kuva 7). Potentiometrisessä pH:n mittauksessa käytettävä yhdistelmäelektrodi tarkoittaa H⁺-selektiivistä elektrodia, johon on saman kuoren sisälle rakennettua vertailuelektrodi. Varsinaisessa pH:n mittauksessa mitataan yhdistelmäelektrodin sisältämän mittaussuoelektrodin ja vertailuelektrodin välille muodostuvaa jännitteenmuutosta, jonka suuruuteen vaikuttaa näyteliuoksen sisältämät ionit. (Opetushallitus b.)



KUVA 7. Veden pH:n määrittämisessä käytettävä automaattinen titraattori (Tirkkonen 2014)

Mitattavat näytteet, puskuriliuokset ja käyttökontrollit temperoitiin näytteenvaihtajan vesihauteessa $+25 \pm 1$ °C:een lämpötilaan. Tämän jälkeen analysaattori käynnistettiin ja näytteet mitattiin näyttekisterin mukaisessa järjestyksessä. Mittaustulokset luettiin tietokoneelta, johon tallentuivat kaikki mittauksen aikaiset tapahtumat. Menetelmän laajennetuksi mittausepävarmuudeksi pH-alueella 3–10 oli menetelmäohjeessa ilmoitettu 3 % (Ahonen 2010, 3).

4.3.2 KMnO₄-luku

Kaliumpermanganaattiluvun määrittäminen perustuu näytteessä olevien hapettuvien aineiden osittaiseen pelkistymiseen. Menetelmässä pelkistymättömän permanganaatin pitoisuus määritetään jodometrisesti titraamalla. (SFS 3036: 1981, 2.) KMnO₄-luvun määrittämisrajana oli menetelmäohjeessa ilmoitettu 2 mg/l sekä laajennettu mittausepävarmuus pitoisuusalueella 2–5 mg/l 30 % ja pitoisuusalueella yli 5 mg/l 15 % (Ahonen 2013a, 3).

Veden KMnO₄-luvun määrittäminen suoritettiin kestävädyistä näytteistä standardin SFS 3036 mukaisesti käyttämällä Tiamo 1.2 ohjelmaa, 785 DMP Titrino yksikköä (natriumsulfaattiliuos), Dosimat 665 yksikköä (kaliumjodidi) sekä automaattista näytteenvaihtajaa 830. Näytteeseen ei lisätty standardista SFS 3036 poiketen tärkkelysindikaattoria, sillä titrauksen päätepiste (EP) määritettiin automaattisesti ioniselektiivisen metallielektrodin titrode 6.0434.110 avulla. Tiamo 1.2 ohjelma laski näytteen si-

sältämän orgaanisen aineen pitoisuuden sekä KMnO_4 -lukuna (mg/l) että COD_{Mn} (mg/l) pitoisuutena tietokoneelle tallennetun laskentaohjelman avulla. Näytteen kemiallinen hapen kulutus (COD_{Mn}) laskettiin kaavan 2 mukaisesti

$$\text{COD}_{\text{Mn}} = (V_2 - V_1) * c_1 * 800 * f \quad (2)$$

jossa

V_2 = näytteen titraukseen kulunut natriumtiosulfaattiliuoksen tilavuus, ml

V_1 = nollanäytteen titraukseen kulunut natriumtiosulfaattiliuoksen tilavuus, ml

c_1 = natriumtiosulfaattiliuoksen konsentraatio, mol/l

800 = puolet hapen (O) moolimassasta milligrammoiksi muutettuna jaettuna näytetilavuudella ($\frac{16}{2} * \frac{1000}{10}$)

f = laimennoskerroin

Permanganaattiluvun KMnO_4 (mg/l) ja COD_{Mn} -arvon välillä on voimassa yhtälö:

Permanganaattiluku (KMnO_4 mg/l) = $3,95 \times \text{COD}_{\text{Mn}}$ (mg/l)

Muuntokerroin 3,95 tulee lausekkeesta $\frac{158}{16 * 2,5}$,

jossa luvut 158 (KMnO_4) ja 16 (O) ovat moolimassoja, sekä 1 mooli permanganaattia vastaa 2,5 moolia happea (O). (SFS 3036: 1981, 4.)

4.4 iCAP Duo 6000 Series

Raudan ja mangaanin määrittämisessä käytettiin plasmaemissiospektrofotometriä iCAP Duo 6000 sekä Eurofins Viljavuuspalvelu Oy:n menetelmäohjetta, joka perustuu standardiin SFS-EN ISO 11885: 1995 (Water quality. Determination of 33 elements by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy). Menetelmäohjeessa raudan laajennetuksi mittausepävarmuudeksi oli ilmoitettu 15 % ja mangaanille 16 %. Vastaavasti määrittämissrajana oli raudalla ja mangaanilla pitoisuus 10 µg/l. (Tiainen 2011, 1.)

Plasman mittaus perustuu kunkin alkuaineen ominaiseen emissioaallonpituuteen. Menetelmässä syntyvän emission voimakkuus on verrannollinen mitattavan alkuaineen määrään näytteessä. Laitteen etuna voidaan pitää nopeutta, laajaa lineaarista aluetta

sekä useiden alkuaineiden määrittystä samanaikaisesti. (Jaarinen & Niiranen 1995, 82, 84.)

Plasmaemissiospektrofotometriassa käytetään hyvin korkeaa lämpötilaa (n. 6000 °C), jossa pysyvimmätkin näytteen aineet hajoavat atomeiksi ja virittäytyvät. Viritystila on pysymätön ja atomi tai ioni emittoi ylimääräisen energiansa kullekin alkuaineelle ominaisena, useasta aallonpituudesta koostuvana säteilynä. Valo jaetaan prisman ja hilan avulla spektriiksi, josta rekisteröidään halutut aallonpituudet CID -detektorilla (kamera). Detektori muuttaa valon energian sähköiseksi impulssiksi, jonka voimakkuus on verrannollinen valon intensiteettiin. Detektorilla mitattu sähköinen impulssi siirretään plasmaa ohjaavalle tietokoneelle, joka laskee alkuaineiden pitoisuudet mitattavista näytteistä. (Tiainen 2013, 1)

4.5 Lämpötilaloggeri, EVT2

Kuljetuksen aikaista lämpötilaa seurattiin kylmälaukkuun asetetuilla Comark EVT2 lämpötilaloggereilla (kuva 8). Laite täyttää vesi- ja pölytiiveydeltään standardin IP67 asettamat laatuvaatimukset. Ennen käyttöä loggereihin pystyttiin ohjelmoimaan tietokoneella haluttu tiedonkeruu-aika (1 s–99 h) laitteen mukana tulleen EVTA 2-ohjelmiston avulla. (Koivunen 2012, 1.)



KUVA 8. Lämpötilan seurannassa käytetty lämpötilaloggeri (Comark)

Käytössä oli viisi Comark EVT2 lämpötilaloggeria, joiden mittausalue oli –30 °C–+70 °C, mittaustarkkuus 0,5 °C, ja lukematakkkuus 0,1 °C (Comark). Laitteen tallentamat mittaustulokset voitiin siirtää tietokoneelle EVTA 2-ohjelman avulla. Näin saatiin käyttöön Excel-muodossa olevat mittaustulokset sekä mittaustuloksien tilastotiedot, kuten tulosten minimi, maksimi ja keskiarvo. (Koivunen 2012, 1.)

4.6 Tulosten vertailussa käytettävät termit ja laskukaavat

Mikrobiologisten tulosten uskottavuus ja vertailu

Vertailtaessa rinnakkaisnäytteiden (A ja B) sekä näytteiden analysointiajankohdan ja säilytyslämpötilan vaikutusta tulosten merkittävyyteen käytettiin hyväksi laboratorion sisäisessä laadunvarmistuksessa käytettävää laskukaavaa 3, jolla arvioidaan rinnakkaistulosten yhteensopivuus.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\log A - \log B)^2}{2 * n}} \quad (3)$$

Kaavassa oleva A ja B arvo ovat rinnakkaismäärityksistä saadut bakteeripitoisuudet ja n on maljaparien (Quanti-Tray® -liuskaparien) lukumäärä. Tuloksia pidettiin yhteensopivina, kun $s < 0,25$. (Tuhkalainen 2013, 5.) Näytteiden analysointiajan ja säilytyslämpötilan tarkastelussa pidettiin vertailukohteena (myöhemmin vertailunäytteenä) standardin mukaisesti kylmässä kuljetettua ja säilytettyä sekä heti näytteenottopäivänä (aika 0) analysoitua vesinäytettä (Tulos A), johon muita tuloksia verrattiin (Tulos B).

Määrittäysraja ja mittausepävarmuus

Kemiallisissa menetelmissä ilmoitettu määrittäysraja tarkoittaa pitoisuutta, joka voidaan määrittää hyväksyttävällä tarkkuudella ja täsmällisyydellä. Tällöin tietyllä tilastollisella todennäköisyydellä (tavallisesti 95 %) voidaan sanoa, että näytteessä oleva pitoisuus poikkeaa merkittävästi nolasta. Mittausmenetelmissä ilmoitettu mittausepävarmuus on arvio, joka ilmoittaa rajat, joiden välissä voidaan olettaa todellisen arvon valitulla todennäköisyydellä olevan. Mittausepävarmuus koostuu yksittäisistä epävarmuustekijöistä. Kokonaisepävarmuus saadaan yhdistämällä eri epävarmuustekijät laskennallisesti. Lisäksi laajennettu mittausepävarmuus, joka vastaa 95 %:n luottamusväliä saadaan kertomalla saatu kokonaisepävarmuus kahdella. (Ahonen 2008, 1–3.)

Fysikaalisten ja kemiallisten tulosten uskottavuus ja vertailu

Fysikaalisten ja kemiallisten analyysien toistettavuuden tarkastelussa käytettiin hyväksi tulosten keskiarvoa (\bar{x}), sillä kaikista parametreista suoritettiin vähintään kaksi määrittystä. Vastaavasti keskihajonnan (σ) tarkoituksena oli todentaa tulosten uskottavuus. Keskihajonta mittaa havaintoarvojen ryhmittymistä keskiarvonsa ympärille, joten keskiarvosta vähemmän poikkeavilla havaintoarvoilla on myös pienempi keskihajonta (Karjalainen 2010, 97). Perusjoukon keskihajonnan laskennassa käytettiin kaavaa:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N}} \quad (4)$$

jossa

σ = perusjoukon keskihajonta

x_i = havaintoarvo

\bar{x} = keskiarvo

N = perusjoukon alkioden lukumäärä (Karjalainen 2010, 97.)

Vertailtaessa näytteiden analysointiajankohdan ja säilytyslämpötilan vaikutusta tulosten merkittävyyteen, käytettiin hyväksi laboratorion sisäisessä laadunvarmistuksessa olevaa laskukaavaa 5, jolla arvioitiin fysikaalisissa ja kemiallisissa määrittelyksissä saatujen rinnakkaistulosten yhteensopivuus. Saatu $r\%$ -arvo kuvastaa rinnakkaisten vaihteluväliä prosentteina keskiarvosta. (Ahonen 2013 b, 2.) Säilyvyystutkimuksessa kyseinen arvo ei saanut ylittää kyseiselle menetelmälle annettua laajennettua mittaus-epävarmuutta.

$$r\% = \frac{TulosA - TulosB}{TulosA + B(ka)} * 100 \quad (5)$$

Tarkastelussa pidettiin vertailukohteena standardin mukaisesti kylmässä kuljetettua ja säilytettyä sekä heti näytteenottopäivän analysoitua tai kestävätyä vesinäytettä (Tulos A), johon muita tuloksia verrattiin (Tulos B). Vertailussa tarkasteltiin sekä kylmässä että lämpimässä säilytettyjen näytteiden muutosta lähtötilanteeseen, kun säilytysaika lisääntyi. Lisäksi tarkasteltiin vertailunäytteen pitoisuutta (kylmä, aika 0) lämpimässä säilytettyihin näytteisiin (esim. kylmä 0/ lämmin 0, kylmä 0/lämmin 1).

5 AINEISTO

5.1 Lämpötilan seuranta

Vesinäytteiden kuljetuksen aikaista lämpötilaolosuhdetta seurattiin lämpötilaloggereilla. Ennen mittauksia lämpötilaloggerit ohjelmoitiin keräämään tietoja joko 1, 5, 10 tai 15 minuutin välein (yleisin mittaussajakaus 5 min) ja varsinainen mittaus käynnistettiin manuaalisesti. Näytteenottajat pakkasivat lähetettävät näytteet käytössä olevien tapojensa mukaisesti, joten näytelähetyksessä käytettävien kylmävaraajien määrä sekä varsinaiset näytteenkuljetuslaukut valittiin näytteenottajien omakohtaisten kokemusten perusteella. Lämpötilaloggerit sijoitettiin näytteenkuljetuslaukkuihin keskelle näytteitä, kuitenkin niin, että ne eivät olleet suorassa kosketuksessa kylmävaraajiin. Näytteenottajat käyttivät kylmävaraajina viittä erikokoista varaajaa, minkä keskiarvopaino saatiin selville punnitsemalla laboratoriossa useampia samanlaisia kylmävaraajia. Saatua keskiarvopainoa käytettiin tulosten tarkastelussa hyväksi. Näytteiden kuljetuslaukkuna käytettiin näytelähetteen mukaan isoja, Styrox-kylmälaukkuja. Osa kuljetuksista saapui laboratorioon siten, että käytettävien kylmälaukkujen mallista ja koosta ei ollut varmaa tietoa. Lähetettävien näyttemäärien perusteella voitiin kuitenkin olettaa, että käytössä oli pääasiassa isoja kylmälaukkuja.

Näytteenottajat täyttivät näytelähetystä koskevat tiedot lomakkeelle. Kyseisiä tietoja olivat; käytettävän loggerin numero, käynnistys päivä, käynnistäjän tiedot, lähetettävä näyttemäärä ja näytetyyppi, kylmävaraajien määrä sekä näytteille tehtävät toimenpiteet ennen lähetystä (esim. jäähdytys). (Liite 3.) Pakatut näytteet ja täytetty lomake lähetettiin postin välityksellä laboratorioon. Kolmea lähetystä lukuun ottamatta näytteet lähetettiin käyttämällä Itellan Express Morning -kuljetuspalvelua, jolloin näytteet saapuivat Eurofins Viljavuuspalveluun maanantaista perjantaihin klo 9:ään mennessä. Laboratoriossa lähetysten vastaanottaja sammutti lämpötilaloggerin heti kylmälaukun avatuaan ja kirjasi lomakkeelle saapumispäivämäärän ja -ajan, loggerin näyttämän lämpötilalukeman, mahdolliset muut huomiot ja vastaanottajan tiedot. Lämpötilaloggerin keräämät tiedot purettiin tietokoneelle EVTA 2-ohjelman avulla, jolloin saatiin käyttöön Excel-muodossa olevat lämpötilan mittaustulokset sekä mittausajan tilastotiedot (liite 4).

Kuljetuksen aikaisia lämpötilaolosuhteita seurattiin vuoden ajan, 6.8.2012–7.8.2013 välisenä aikana satunnaisesti. Tietoja kertyi 21:stä eri lähetyksestä. Näistä kahdeksan edusti kesällä (kesä-elokuu), viisi talvella (joulu-helmikuu), kaksi keväällä (maalis-toukokuu) ja kuusi syksyllä (syys-marraskuu) tapahtuvia lähetyksiä. Näytetyyppeinä oli enimmäkseen lämpimiä uima-allasvesiä ja uimarantavesiä sekä yksittäisiä talousvesiä.

5.2 Säilyvyystutkimus

Säilyvyystutkimuksen tarkoituksena oli tutkia kylmässä ja huoneenlämmössä säilytettyjen, neljän erityyppisen vesinäyte-erän käyttäytymistä säilytysajan pidentyessä. Luvuissa 5.2.1–5.2.3 kerrotaan säilyvyystutkimukseen valituista vesinäytteistä, niiden näytteenotosta sekä varsinaisen kokeellisen tutkimuksen suorittamisesta. Varsinaiset analyysit suoritettiin Viljavuuspalvelu Oy:n käytössä olevilla akkreditoiduilla menetelmillä, mitkä olivat joko standardin mukaisia menetelmiä tai Viljavuuspalvelu Oy:n validoituja mittausmenetelmiä. Käytettävät menetelmät ja laitteet on kerrottu luvuissa 4.1–4.4.

5.2.1 Esitestaus

Esitestauksen tarkoituksena oli varmistaa, että säilyvyystutkimukseen saataisiin mahdollisimman edustavat kaivovesinäytteet, joiden perusteella voitaisiin tehdä havaintoja näytteiden säilyvyydestä ja näytteessä tapahtuvista mikrobiologisista ja kemiallisista muutoksista. Lisäksi pidettiin mahdollisena lisätä *E.coli*-bakteeria johonkin tutkittavaan vesinäytteeseen, jotta saadaan varmuudella tämän tyyppinen näyte säilyvyystutkimuksiin. Esitestauksessa tutkittiin joulukuun 2013–tammikuun 2014 aikana kaivovesinäytteitä Viljavuuspalvelun oman henkilökunnan tai heidän tuttavien omistamista kaivoista.

Esitestauksessa määritettiin Colilert® -testillä koliformiset bakteerit ja *E.coli* sekä näytteiden ulkonäkö. Ulkonäön aistinvaraisella arvioinnilla pyrittiin saamaan tutkimuksiin joko rautapitoisia tai orgaanisia aineita sisältäviä näytteitä. Näytteiden tulokset kirjattiin kaavakkeelle, josta valittiin laajempaan säilyvyystutkimukseen kolme erityyppistä näytettä (taulukko 1).

TAULUKKO 1. Säilyvyystutkimukseen valitut vesinäytteet

pvm	Näyte	koliformiset bakteerit	<i>E.coli</i>	Ulkonäkö
12.12.2013	I	120	0	kellertävä, samea
13.1.2014	II	27	0	keltainen
8.1.2014	III	120	3	kirkas

Säilyvyystutkimukseen valittiin koliformisia bakteereita sisältävä vesinäyte, jota testauksessa merkittiin nimellä, näyte I, luonnonvesi tyyppinen (mahdollisesti orgaanista ainesta sisältävä) vesinäyte, näyte II sekä *E.coli*-bakteeria sisältävä vesinäyte, näyte III.

5.2.2 Näytteenotto

Näytteet I–III otettiin 3.2.2014 noin klo 6–7 kaivonomistajien toimesta. Näyte I otettiin näytteenottimella kivipuitekaivosta. Näytteenottajan mukaan näytteenotin oli alussa vuotanut, joten ensimmäisten pullojen kohdalla (merkattu kylmä 0 ja 1) näytteet olivat mahdollisesti epäedustavia. Näyte II otettiin sangon avulla rengaskaivosta, ja näyte III kaivopumpulla rengaskaivosta. Jokainen vesinäyte otettiin kahdeksaan yhden litran steriiliin (kaupalliseen) kierrekorkilliseen näytepulloon. Osa näytepulloista oli otettu näytteenoton yhteydessä täyteen. Vastaavasti osa näytteistä oli täytetty näytepullon kaulaan asti, jolloin näyteastiassa oli vähän ilmatilaa. Jokaisesta näyte-erästä neljä näytettä kuljetettiin viilentämättä ja toiset neljä kuljetettiin viilennettyinä kylmävaraajilla varustetuissa kylmälaukussa laboratorioon.

Lisäksi testaukseen otettiin rengaskaivosta II 17.2.2014 noin klo 5.30 vesinäyte, jota merkattiin numerolla IV. Tämä näyte otettiin sangolla kahdeksaan yhden litran steriiliin (kaupalliseen) näytepulloon. Näytteet kuljetettiin edellä kuvatun mukaisesti laboratorioon ja niihin kaikkiin lisättiin näytteenottopäivänä, heti laboratorioon saapumisen jälkeen, *E.coli* bakteeria.

E.coli-bakteerin lisäys tehtiin käyttämällä BHI -ravintoliemessä kasvatettua *E.coli*-kanta. *E.coli*-bakteerikanta Labema Kwick-Stick ATCC 25922 on laboratorion laadunvarmistuksessa yleisesti käytetty bakteeri, jota käytetään muun muassa erilaisten elatusaineiden toimivuuden testauksessa. Käytettävän bakteerisiirroksen laimennos

arvioitiin aikaisempien laaduntarkkailutulosten perusteella, sillä tarkoituksena oli saada riittävä määrä *E.colia* kasvamaan Colilert® -testillä. Laimennoksia varten otettiin 1 ml BHI -liemessä kasvatettua bakteerikantaa 9 ml:aan peptonisuolaliuosta. Tästä laimennoksesta (10^{-1}) otettiin 1 ml bakteerisiirrosta 9 ml:aan peptonisuolaliuosta, jolloin saatiin laimennokseksi 10^{-2} . Laimennoksia jatkettiin edellä kuvatun mukaisesti aina laimennokseen 10^{-6} asti, jolloin saatiin aikaiseksi ennakkoon arvioidun suuruinen bakteerisiirros (arvioitu n. 10 pmy/ 100 ml näytettä). Tästä liuoksesta lisättiin samaan tilavuuteen (n. 1 l) tasattuihin, numerolla IV merkattuihin, kylmässä ja viilentämättömänä (myöhemmin lämpimässä) kuljetettuihin näytepulloihin 0,2 ml bakteerisiirrosta. Näytepullot sekoitettiin hyvin ja niiden käsittelyä jatkettiin säilyvyystutkimuksessa esitetyllä tavalla.

5.2.3 Säilyvyystutkimuksen suorittaminen

Yhdet kylmässä ja lämpimässä kuljetetuista vesinäytteistä tutkittiin standardien mukaisesti näytteenottopäivänä 6 h (± 3 h) kuluttua näytteenotosta. Näitä näytteitä merkattiin tuloksissa merkillä, aika 0. Loput näytepullot numeroitiin analysointiajankohdan (1–3 vrk näytteenotosta) ja näytteen säilytyslämpötilan mukaan seuraavasti: näyte I, kylmä, 1; näyte I, lämmin, 1; näyte I, kylmä, 2; näyte I, lämmin, 2; näyte I, kylmä, 3; näyte I, lämmin, 3 jne.

Hyvin sekoitetuista yhden litran näytepulloista otettiin ensin mikrobiologista Colilert® -testiä varten menevät näytteet steriileihin 100 ml:n pulloihin, ja niitä säilytettiin analyysin suorittamiseen asti joko kylmässä (viileä kuljetus) tai lämpimässä (viilentämätön kuljetus). Ensimmäisten näytteiden kohdalla (Näytteet I–III, aika 0) kaikki Colilert® -testiin menevät näytepullot oli laitettu epähuomiossa kylmään, joten näytteiden lähtölämpötilassa ei ollut eroavaisuuksia. Mikrobiologisten näytteiden jälkeen näytteet jaettiin kemiallisiin tutkimuksiin meneviin näyteastioihin. Näytteet sekoitettiin jälleen hyvin, ja kaikki kemialliset näyteastiat huuhdottiin pienellä määrällä tutkittavaa näytettä ennen astioiden täyttämistä.

Vesinäytteiden nitraatti (NO_3^-) ja nitriitti (NO_2^-) sekä pH määritettiin edellä kuvatun tutkimusajan kuluessa (6 h ± 3 h). KMnO_4 -lukua varten näytteet kestävästiin pestyihin 100 ml muovipulloihin SFS 3036 mukaisesti lisäämällä 1ml 4 mol/l H_2SO_4 / 100 ml näytettä. Metalleja (Fe ja Mn) varten näytteet kestävästiin happopestyihin muovipul-

loihin standardin SFS-EN ISO 11885:2007 mukaisesti lisäämällä 0,5 ml väkevää suprapur HNO_3 / 100 ml näytettä.

Loput kylmässä kuljetetuista näytteistä siirrettiin kylmään ($+5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) ja vastaavasti lämpimässä kuljetetut näytteet jätettiin pimeään huoneenlämpöön ($+20 \pm 2^\circ\text{C}$), aina säilyvyystestauksen loppuun asti. Näytteiden säilytyslämpötilaa kylmiössä ja huoneenlämmössä seurattiin kalibroiduilla lämpömittareilla. Säilytetyistä näytteistä tutkittiin nitraatti, nitriitti sekä pH 27 h ± 3 h, 51 h ± 3 h ja 75 h ± 3 h kuluttua näytteenotosta, eli näytteenottoa seuraavien kolmen päivän aikana. Nämä näytteet merkittiin tutkimuspäivän mukaisesti nimellä 1, 2 ja 3. KMnO_4 -lukua, rautaa ja mangaania varten näytteet kestävästi edellä kuvattujen tutkimusaikojen mukaisesti. Näin itse määrittäminen suoritettiin näytteitä keräämällä, sillä tutkittavat metallit säilyvät standardin EN ISO 5667-3 mukaan kestävästi jopa yhden kuukauden ja KMnO_4 -luku standardin SFS 3036 mukaan enintään viikon, mikäli näytteitä säilytetään kestävästi pimeässä ja viileässä. Kaikki metallimäärityksiin menevät näytteet tehtiin suoraan kestävästi näytteistä. Lisäksi näytteet I ja III suodatettiin kestävästi jälkeen 0,8 μm filtitillä, jotta voitiin varmistaa näytteiden tasalaatuisuus. Kylmässä ja lämpimässä säilytettujen näytteiden mikrobiologiset tutkimukset tehtiin n. 32 h, 56 h ja 80 h kuluessa näytteenotosta, sillä Colilert® -testin mukaiset inkubointiajat (18–22 h) eivät työajan puitteissa olisi muuten onnistuneet.

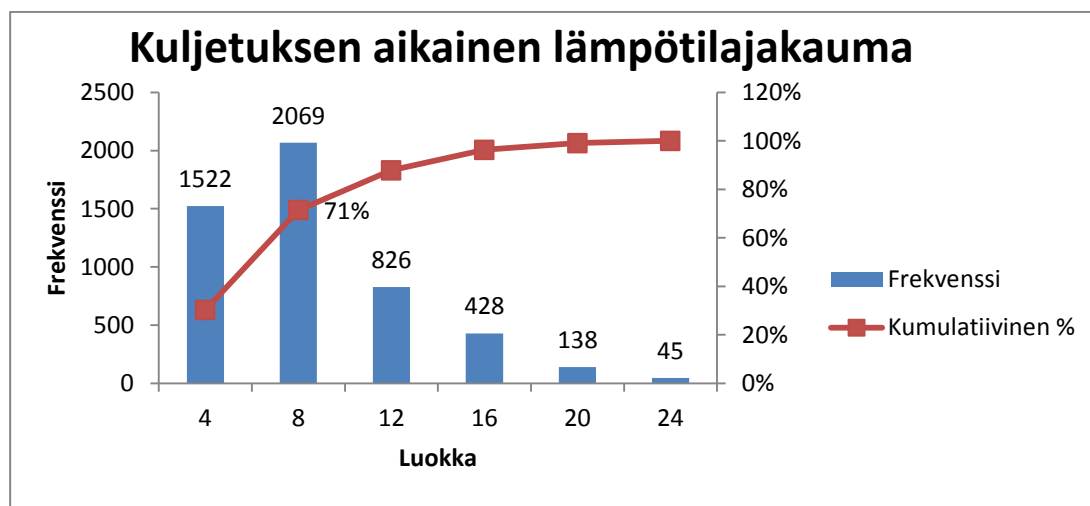
Jokaisesta näytteestä ja analyysistä suoritettiin säilyvyystestauksessa vähintään 16 eritukimusta, sillä kaikki tehtävät määritykset suoritettiin rinnakkaisina. Näin tuloksista saatiin laskettua näytteiden keskiarvot ja keskihajonta (kemialliset tutkimukset). Rinnakkaismäärityksissä noudatettiin kuitenkin analyysikohtaisia ohjeita, sillä esim. KMnO_4 -luvun määrityksessä yhteen tulokseen (A) vaadittiin jo rinnakkaiset määritykset.

6 TULOKSET JA TULOSTEN TULKINTA

6.1 Lämpötilan seuranta

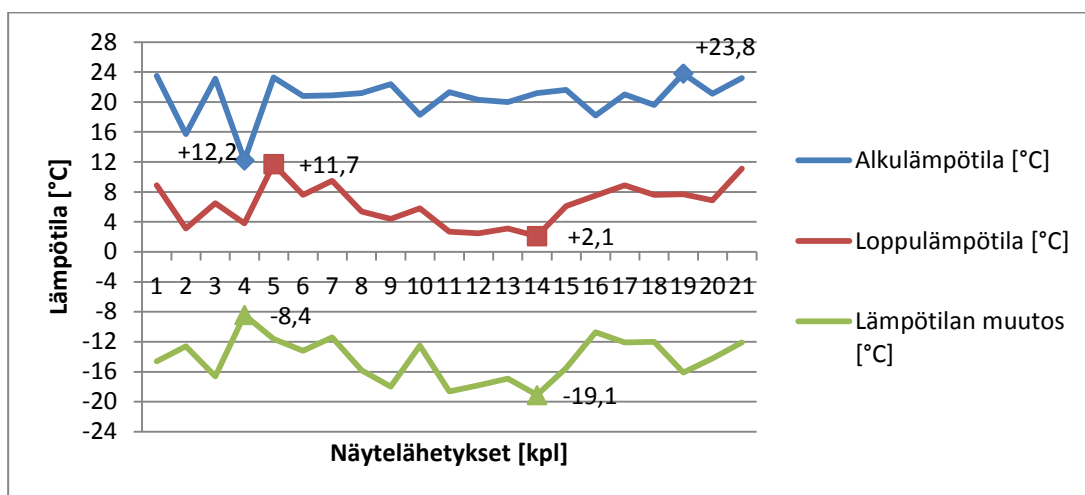
Seurattavista näytelähetystyksistä lämpötilaloggerit keräsivät tietoja yhteensä 5027 mittauspahtumasta. Lähetystysten lämpötilaolosuhteet pysyivät suurimman osan mittaus-

ajasta (n. 71 %) kahdeksassa asteessa tai sen alapuolella. Kyseistä lämpötilaa pidettiin tässä tarkastelussa tavoitelämpötilana, sillä se täyttää standardien SFS-EN ISO 19458 ja EN ISO 5667-3: 2012 mukaan vesinäytteiden kuljetukselle asetetun lämpötilatavoitteen $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Tavoitelämpötilaa suuremmat lämpötilat johtuivat luonnollisesti näytteiden alkulämpötiloista. (Kuva 9.) Liitteeseen 5 on taulukoitu lämpötilaloggereiden mittausajanjaksot, loggereiden keräämät lämpötilojen tilastotiedot, tavoitelämpötilan saavuttamisajat sekä lähetyksien näyte- ja kylmävaraajien määrät (liite 5).



KUVA 9. Kuljetuksen aikaisen lämpötilaolosuhteen lämpötilajakauma ja frekvenssi lämpötilaluokittain

Näytelähetysten alkulämpötilat vaihtelivat $+12,2^{\circ}\text{C}$:sta $+23,8^{\circ}\text{C}$:een, keskiarvon ollessa $+20,6^{\circ}\text{C}$ ja loppulämpötilat $+2,1^{\circ}\text{C}$:sta $+11,7^{\circ}\text{C}$:een, keskiarvon ollessa $+6,3^{\circ}\text{C}$. Jokaisessa näytelähetyksessä kylmälaukkujen lämpötilaolosuhteet alenivat kylmävaraajien ansiosta huomattavasti. Muutokset olivat pienimmillään $-8,4^{\circ}\text{C}$ ja suurimmillaan $-19,1^{\circ}\text{C}$, keskiarvon ollessa $-14,3^{\circ}\text{C}$. (Kuva 10; Liite 5.)



KUVA 10. Näytelähetysten alku- ja loppulämpötilat sekä olosuhteissa tapahtuneet lämpötilan muutokset

Kuljetuksissa käytettiin näytelaukkuja kohden kylmävaraajia 1,3–2,7 kg, keskiarvon ollessa 1,8 kg. Pienimmät näytemäärät olivat 0,5 kg ja suurimmat noin 7 kg, keskiarvon ollessa 5,3 kg. Tarkasteltaessa kesän lähetystyksiä, jolloin ulkoilman lämpötila on korkeampi, kylmävaraajia käytettiin näytekiloa kohden 0,27–0,53 kg, keskiarvon ollessa noin 0,34 kg. Muina ajankohtina käytettiin kuljetuksissa näytekiloa kohden kylmävaraajia 0,20–0,45 kg keskiarvon ollessa noin 0,33 kg. Tarkastelussa on jätetty huomioimatta näytelähetys 2, jossa ei ollut tietoa näytemäärästä, sekä lähetys 20, jonka näytemäärä oli 0,5 kg. (Liite 5.)

Kuljetuksen aikaisia lämpötilaolosuhteita tutkittiin mittaustulosten perusteella vielä lähemmin eri vuodenaikoina tapahtuvista näytelähetystyksistä. Tarkastelussa haluttiin selvittää, kuinka paljon näytteiden tavoitelämpötilan saavuttamiseen kului aikaa. Mäkelän ym.(1992) sekä standardin SFS 3951 mukaan suositellaan näytteiden jäähdyttämistä ($+4 \pm 2$ °C, $+5 \pm 3$ °C), mikäli kuljetusaika kestää yli neljä tuntia. Näin ollen suositeltavana tavoitelämpötilan saavuttamisaikana pidettiin enimmillään neljää tuntia, erityisesti näytelähetystyksissä, joiden näytteitä ei analysoida saman työpäivän aikana.

Näytelähetystyksistä kahdeksan alitti $+8$ °C:n lämpötilan neljään tuntiin mennessä. Näytteiden alkulämpötilan ollessa alhaisempi (lähetys 2 ja 4) sekä näytteiden viilennys (lähetys 13, 17 ja 20) ennen kuljetusta nopeuttivat huomattavasti näytteiden viilentymistä. Näillä näytteillä tavoitelämpötilan saavuttamiseen kului aikaa vain 10 min–1,5 h. Yhdeksässä näytelähetystyksessä, missä kuljetus kesti yli 17 h, tavoitelämpötilan saa-

vuttamiseen kului aikaa yli neljä tuntia. Näistä lähetyksistä kesällä saavutettiin +8 °C:n lämpötila 10–17 h ja muina ajankohtina 4,5–10 h kuluttua kuljetuksen aloittamisesta. Näytelähetyksellä 21(7.–8.8.2014) tavoitelämpötila jäi kokonaan saavuttamatta. Kolme näytelähetyksistä saapui laboratorioon näytteenottopäivänä (kuljetusaika 4,5–6,5 h), jolloin niiden analysointi aloitettiin saman päivän aikana. Näin ollen +8 °C:n tavoitelämpötilaa ei tarvinnut alittaa. (Liite 5.)

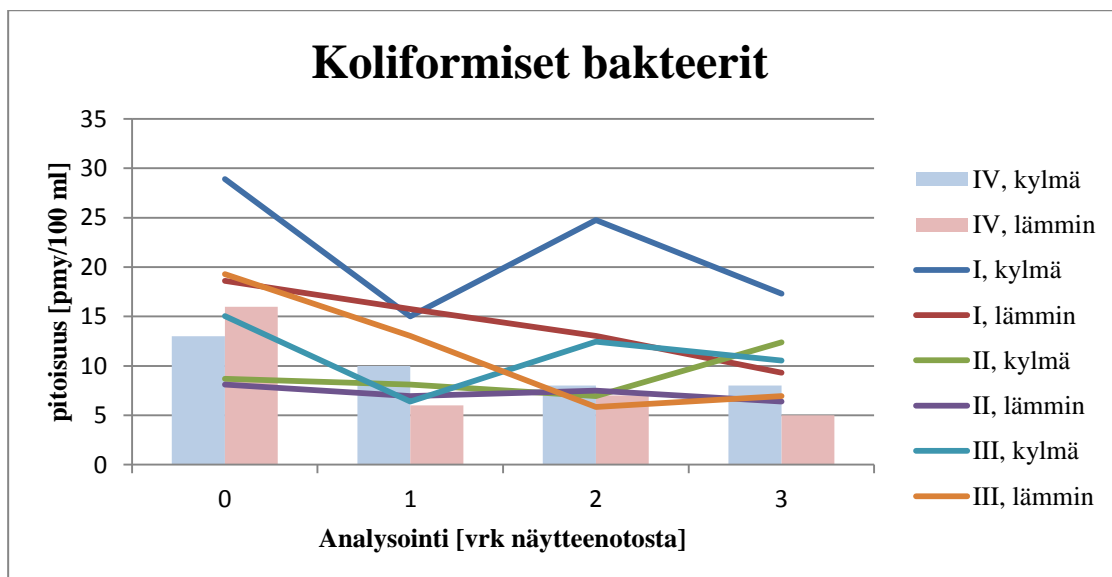
6.2 Säilyvyystutkimus

Tuloksissa verrattiin, miten pidentynyt säilytysaika ja huoneenlämpöiset olosuhteet vaikuttavat näytteenottopäivänä standardin mukaisesti analysoidun tai kestäväidyn näytteen lähtöpitoisuuksiin. Vertailussa käytettiin hyväksi laboratorion sisäisessä laaduntarkkailussa käytettäviä laskentakaavoja, millä arvioitiin tulosten yhteensopivuus (ks. luku 4.6). Liitteissä 6–11 on esitetty näytteiden rinnakkaistulokset, keskiarvotulokset, keskihajonnat (kemialliset tutkimukset) sekä tulosten yhteensopivuudet (liitteet 6–11).

6.2.1 Mikrobiologiset tutkimukset

Säilyvyystutkimuksessa olleiden vesinäytteiden I–III kaikki mikrobiologiset rinnakkaismääritykset A ja B olivat edustavia, sillä ne alittivat laboratorion sisäisessä laadunvarmistuksessa käytettävän rinnakkaisten yhteensopivuusarvon $s < 0,25$. Vastaa- vasti siirrostetulla näytteellä IV esiintyi laaturajan ylityksiä lämpimässä säilytetyissä näytteissä. (Liite 7(1).) Laaturajan ylityksestä huolimatta päädyttiin tarkastelussa käyttämään kaikilla näytteillä rinnakkaistuloksista laskettuja keskiarvotuloksia.

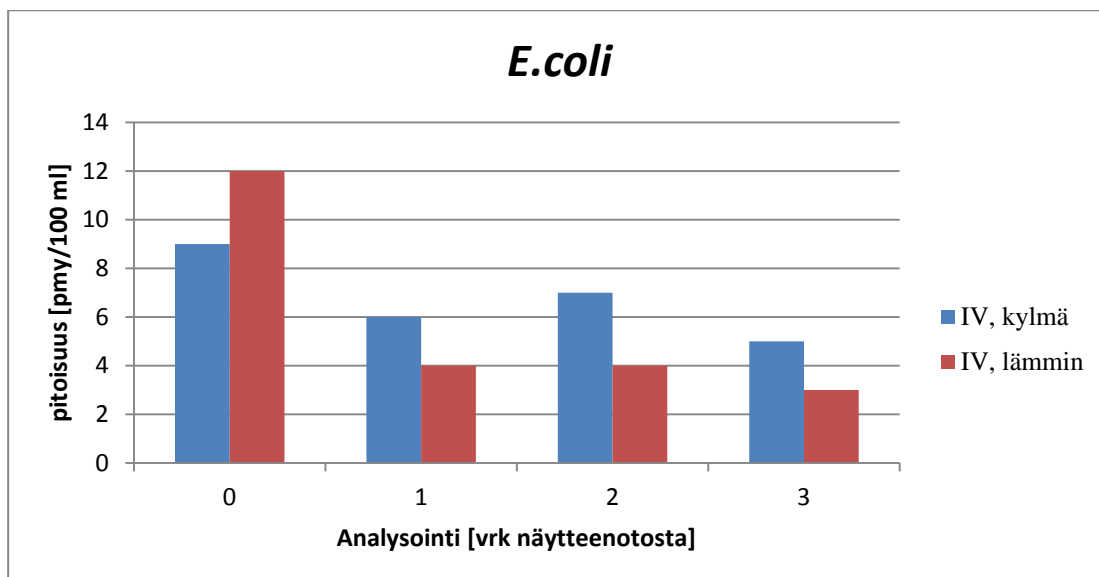
Vesinäytteistä I–IV määritettyjen koliformisten bakteereiden keskiarvopitoisuuksia verrattiin kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen näytteiden pitoisuuksiin. Samalla tarkasteltiin muuttuvatko bakteeripitoisuudet, mikäli näytteitä säilytetään standardissa suositeltavan säilyvyysajan jälkeen (maks.24 h). (Kuva 11.) Liitteessä 6 on esitetty säilyvyystutkimuksessa olevien mikrobiologisten tutkimuksien MPN -taulukkoarvo (pmy/100 ml) sekä tulosten vertailussa käytetyt näytteiden keskiarvotulokset (liite 6).



KUVA 11. Koliformisten bakteerien keskiarvopitoisuudet säilytysajan lisääntyessä

Kylmässä säilytettyjen vesinäytteiden I, III ja IV koliformisten bakteerien pitoisuuksissa havaittiin reilun vuorokauden (32 h) jälkeen laskua. Säilytysajan lisääntyessä pitoisuudet nousivat tai pysyivät lähes samassa myös näytteellä II, jossa koliformisten bakteereiden lähtötaso oli pienempi. Vastaavasti lämpimässä säilytetyillä vesinäytteillä bakteerien pitoisuudet alenivat pääsääntöisesti tasaisesti säilyvyysajan lisääntyessä. Samalla havaittiin, että kylmässä säilytettyjen vesinäytteiden bakteeripitoisuudet olivat lähes kaikilla näytteillä hieman suurempia kahden ja kolmen vuorokauden kuluttua näytteenotosta kuin lämpimässä säilytettyjen vesinäytteiden. (Kuva 11; Liite 6.)

Vesinäytteissä I ja II ei todettu *E.coli*-bakteeria. Näytteellä III havaittiin kylmässä vesinäytteessä yksi *E.coli*-bakteeri kolmen vuorokauden kuluttua näytteenotosta. (Liite 6.) Muuten *E.coli*-pitoisuuksia tarkasteltaessa havaittiin samansuuntainen trendi, kuin koliformisissa bakteereissa. Lämpimässä säilytettyjen näytteiden IV bakteeripitoisuudet olivat näytteenottopäivää lukuun ottamatta pienempiä kuin kylmässä säilytettyjen näytteiden. Lisäksi lämpimässä säilytettyjen näytteiden pitoisuudet alenivat enemmän säilytyksen edetessä kuin kylmässä säilytettyjen näytteiden. (Kuva 12; Liite 6.)



KUVA 12. Kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen vesinäytteiden *E.coli*-bakteerien keskiarvopitoisuudet säilytysajan lisääntyessä

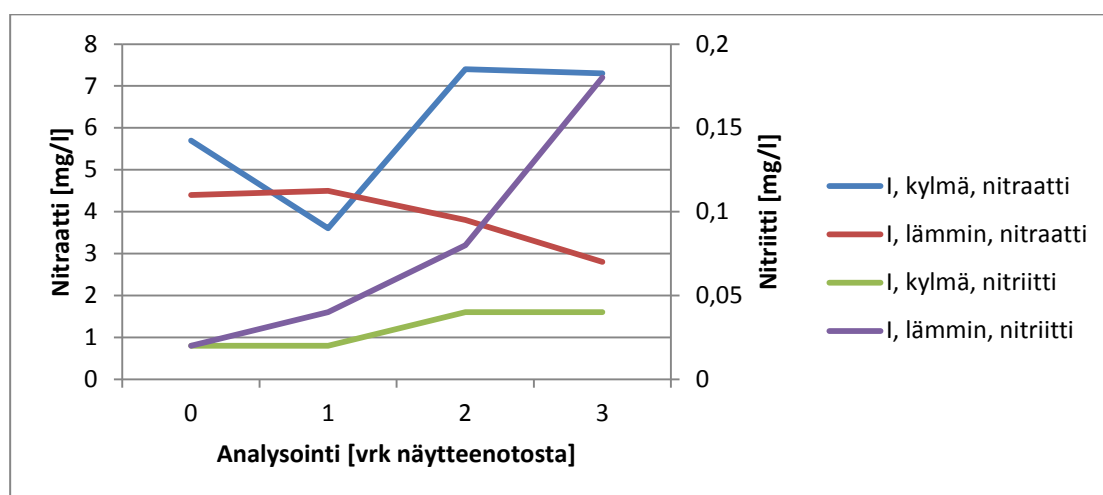
Vertailtaessa säilytysajan ja -lämpötilan vaikutusta vertailunäytteeseen (kylmä, aika 0) käytettiin näytteellä I vertailukohteena lämpimässä säilytettyä vesinäytettä (aika 0). Kyseinen vesinäyte (lämmin, aika 0) oli säilytetty analysointiin asti kylmässä ja sen katsottiin olevan edustavampi kuin näytteenotossa häiriintynyt vertailunäyte (kylmä 0). Lisäksi näytteiden II ja III vertailukohteena pidettiin kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen vesinäytteiden pyöristettyä keskiarvotulosta (aika 0), sillä kaikki näytteenotopäivänä analysoitavat näytteet pidettiin Colilert® -testiä varten kylmässä. (Liite 6; Liite 7(2).)

Tarkastelussa havaittiin kylmässä säilytettyjen näytteiden koliformisten bakteerien ja *E.coli*-bakteeripitoisuuksien pysyvän koko tarkasteluajanjaksolla (aika 0–3) mikrobiologisille rinnakkaistutkimuksille annetuissa laaturajoissa. Poikkeuksena kylmässä säilytetty vesinäyte III, jonka koliformisten bakteereiden rinnakkaistulosten yhteensopivuus yhden vuorokauden kuluttua näytteenotosta oli 0,32. Lämpimässä säilytettyjen vesinäytteiden koliformisten bakteerien tulosten yhteensopivuudessa havaitaan eroavaisuuksia kahden vuorokauden kuluttua näytteenotosta. Vastaavasti tarkasteltaessa lämpimässä säilytetyn vesinäytteen IV *E.coli* -pitoisuuksien yhteensopivuutta vertailunäytteeseen, havaittiin pitoisuuksien ylittävän jo vuorokauden jälkeen rinnakkaistutoksille annetun laaturajan ($s < 0,25$). (Liite 7(2).)

6.2.2 Fysikaaliset ja kemialliset tutkimukset

Nitraatti ja nitriitti

Vesinäytteiden II–IV nitraattipitoisuudet pysyivät lähes muuttumattomina koko säilyvyystutkimuksen ajan, riippumatta siitä, oliko näytteitä säilytetty kylmässä tai lämpimässä. Näytteiden nitriittipitoisuudet olivat myös alle menetelmän määritysrajan ($< 0,01$ mg/l). Vertailtavana olevat rinnakkaisarvot olivat kaikkien edellä mainituilla näytteillä pienempiä kuin menetelmän laajennettu mittausepävarmuus. (Liite 8.) Näytteessä I havaittiin nitraatti- ja nitriittipitoisuuksissa muutunutta sekä kylmässä että lämpimässä säilytetyillä näytteillä (kuva 13).



KUVA 13. Vesinäytteen I nitraatin ja nitriitin keskiarvopitoisuuksien muutokset säilytysajan lisääntyessä

Kylmässä säilytetyillä vesinäytteillä havaittiin nitraattipitoisuuksissa laskevaa ja nousevaa vaihtelua. Tähän saattoi vaikuttaa näytteellä kylmä aika 0 ja aika 1 näytteenotossa tapahtuneet häiriöt. Näytteenottopäivänä analysoidun nitraattipitoisuuden lähtötasona voitiin näin ollen pitää lämpimässä säilytetyn näytteen (lämmin, aika 0) nitraattipitoisuutta, sillä kylmästä vuodenajasta johtuen näytteiden alkulämpötiloissa ei ollut eroavaisuuksia. Edellä mainitusta epävarmuudesta huolimatta havaittiin kylmässä säilytetyjen näytteiden nitraattipitoisuuksien nousevan säilytyksen edetessä, kun taas lämpimässä säilytetyjen näytteiden pitoisuudet laskivat. Vaikka lähtötasona pidettiin lämpimässä säilytettyä (aika 0) nitraattipitoisuutta, havaittiin muutoksen ylittävän menetelmälle annetun laajennetun mittausepävarmuuden (11 %) näytteillä, jotka oli analysoitu vuorokauden kuluttua näytteenotosta. Vastaavasti verrattaessa lähtöta-

soa lämpimässä säilytettyihin näytteisiin, havaittiin laaturajan ylitys näytteellä, joka oli analysoitu kahden päivän kuluttua näytteenotosta. (Liite 8.)

Kylmässä säilytetyn näytteen I nitriittipitoisuuksissa ei tapahtunut merkittävää muutosta säilytysajan lisääntyessä. Vastaavasti lämpimässä säilytettyjen näytteiden pitoisuudet nousivat huomattavasti lähtötasosta säilytysajan lisääntyessä. Pitoisuus ylitti menetelmälle annetun laajennetun mittausepävarmuuden (20 % ja 25 %) kylmässä säilytetyllä näytteellä, joka oli analysoitu kahden päivän kuluttua näytteenotosta. Vastaavasti lämpimässä säilytetyn näytteen pitoisuus ylitti jo vuorokauden jälkeen menetelmälle annetut laaturajat. (Liite 8.)

pH ja $KMnO_4$ - luku

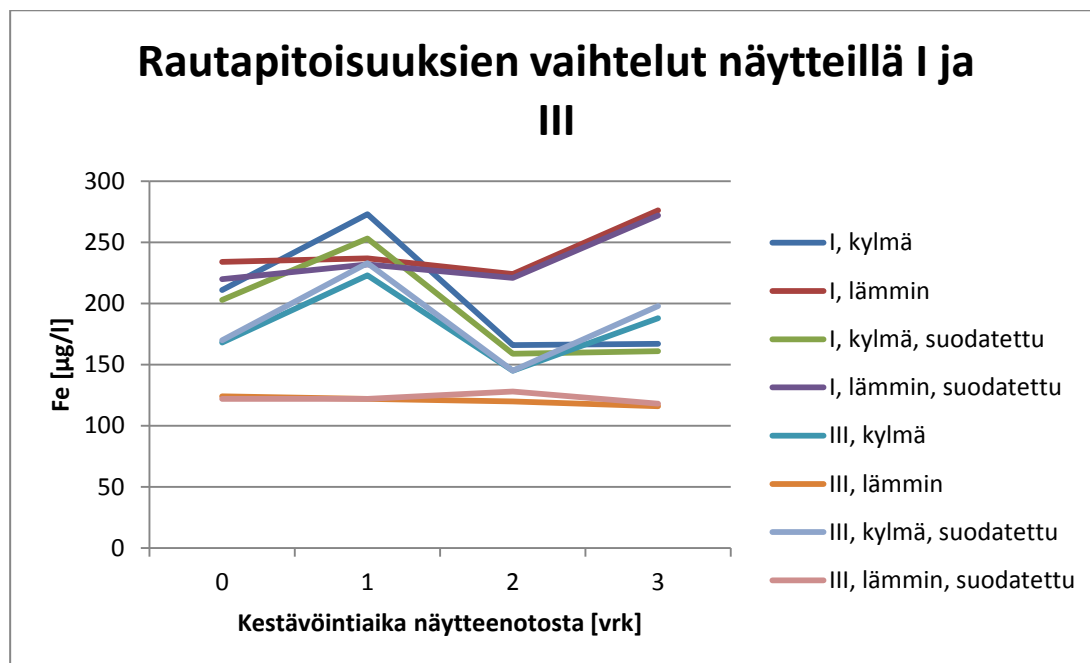
Lämpimässä ja kylmässä säilytettyjen vesinäytteiden I–III pH arvot pysyivät muuttumattomina koko säilyvyystutkimuksen ajan. Siirrostetun näytteen IV pH:n havaittiin hieman nousevan säilytysajan lisääntyessä. Kaikki vertailuarvot pysyivät myös näytteellä IV menetelmälle annetun laajennetun mittausepävarmuuden rajoissa (3 %). (Liite 9.)

$KMnO_4$ -luvun määrittämisessä, standardin SFS 3036 mukaisesti heti näytteenottopäivänä kestävädyissä vesinäytteissä II havaittiin pitoisuuksien olevan hieman pienempiä kuin näytteillä, jotka olivat kestävädyt vasta näytteenottoa seuraavina päivinä (2 ja 3). Muutokset olivat samansuuntaisia sekä kylmässä että lämpimässä säilytetyillä näytteillä. Muutokset olivat kuitenkin pieniä eivätkä ne ylittäneet kyseiselle menetelmälle annettua laaturajaa ($>5\text{mg/l}$ 15 %). Samoin näytteillä I, III ja IV muutokset alittivat jokaisena vertailuajankohtana menetelmälle annetut laaturajat ($2\text{--}5\text{ mg/l}$ 30 %, $>5\text{mg/l}$ 15 %). (Liite 9.)

Rauta ja mangaani

Näytteiden II ja IV rautapitoisuudet pysyivät lähes muuttumattomina koko säilyvyystutkimuksen ajan riippumatta siitä, oliko näytteitä säilytetty kylmässä tai lämpimässä. Näytteillä I ja III rautapitoisuuksissa oli selkeää hajontaa eri päivänä kestävädyissä näytteissä. Kestävädyt näytteiden suodattamisella ei näyttänyt olevan merkittävää vaikutusta pitoisuuksiin. Tulosten perusteella lämpimässä säilytettyjen näytteiden

muutokset olivat pienempiä kuin kylmässä säilytetyillä näytteillä. Verrattaessa kylmässä säilytettyjen näytteiden pitoisuuksia lähtötilanteeseen, rautapitoisuudet ylittivät rinnakkaisille asetetut laaturajat (15 %) lähes jokaisena ajankohtana. (Liite 10, Kuva 14.)



KUVA 14. Näytteiden I ja III raudan keskiarvopitoisuuksien muutokset säilytysajan lisääntyessä

Näytteiden II–IV mangaanipitoisuudet olivat alle määrittäysrajan ($< 10 \mu\text{g/l}$) kaikissa näytteissä, eikä niissä tapahtunut muutoksia säilytysajan lisääntyessä. Näytteen I tuloksissa oli samankaltaista hajontaa kuin raudalla. Lämpimässä säilytetyjen näytteiden pitoisuudet olivat yhtä näytettä lukuun ottamatta hieman isompia kuin kylmässä säilytetyjen näytteiden. Rinnakkaistuloksien muutokset alittivat lähes kaikilla vertailuajankohdilla menetelmälle annetut laaturajat (16 %). Poikkeuksena oli lähtötasoon (kylmä 0) verrattava lämpimässä säilytetty ja kolmen vuorokauden jälkeen kestävöity näyte. (Liite 11.)

6.3 Tulosten tarkastelua ja pohdintaa

Tulosten tarkastelussa pohdittiin mittaustuloksiin ja pitoisuuksien muutoksiin vaikuttavia tekijöitä. Täten säilyvyystutkimuksen tuloksien tarkastelussa ei pohdittu kaivo-vesinäytteiden laatua ja siihen vaikuttavia tekijöitä vaan vesinäytteissä pidentyneen säilytysajan ja lämpötilan vaikutuksesta tapahtuvia muutoksia ja niiden syitä. Lisäksi

pohdittiin mahdollisia virhelähteitä ja jatkotutkimus mahdollisuuksia sekä pohdittiin, vaikuttavatko esiintyneet muutokset vesinäytteiden laatuun tai näytteistä annettaviin lausuntoihin.

6.3.1 Lämpötilan seuranta

Kuljetuksen aikaisessa lämpötilanseurannassa tarkkailtiin näytelähetystyksiä, joiden alkulämpötilan keskiarvo oli 20,6 °C. Näytteiden kuljetuksenaikaiset olosuhteet pysyivät suurimman osan mittausajasta (71 %) standardien SFS-EN ISO 19458 ja EN ISO 5667-3: 2012 asettamassa lämpötilatavoitteessa ($+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$). Näytteiden suositeltavana viilennysaikana pidentyneissä näytelähetystyksissä pidettiin neljää tuntia. Tämän tavoitteen saavuttivat näytelähettykset, joiden alkulämpötila oli alhaisempi, ja lähettykset, joiden näytteitä oli viilennetty jääkaapissa ennen kuljetusta. Näytteiden alkulämpötilan ollessa korkeampi, havaittiin kylmävaraajien määrän olevan usein riittämätöntä, sillä niiden viilennyskapasiteetti ei pystynyt alentamaan näytteiden lämpötilaa neljän tunnin kuluessa tavoitelämpötilaan. Lisäksi kylmävaraajien määrällä ei näyttänyt olevan selkeää riippuvuutta näytemäärään, lämpötilan muutokseen tai vuodenaikaa. Kesäaikana käytettiin näytekiloa kohden lähes saman verran kylmävaraajia kuin muina ajankohtina. Toisaalta tulokset ovat vain suuntaa antavia, sillä tulosten tarkastelussa käytettiin hyväksi kylmävaraajien keskiarvopainoa.

Kylmäkapasiteetin määrää on ilman lisätestausta vaikea arvioida, sillä siihen vaikuttava useat tekijät, kuten ulkoilman lämpötila, näyteastiat, kylmälaukun tiiviys ja materiaali, kylmävaraajien sijoittelu sekä kuljetusaika. Näin ollen jatkotutkimuksissa tulee vakioda olosuhteita käyttämällä samankokoisia kylmävaraajia ja kylmälaukkuja sekä seurata lämpötilaloggereilla lisääntyneen kylmävaraajien määrän vaikutusta lämpötilaolosuhteisiin. Lähtökohtana lämpimillä, kesäaikana tapahtuvilla lähetystyksillä voidaan kylmävaraajien määränä pitää vähintään 0,5 kg/1 kg näytettä ja muina ajankohtina 0,4 kg/1 kg näytettä. Ohjeellinen määrä on arvioitu ainoastaan näytelähetystysten tietojen perusteella (liite 5). Mikäli viilennys on edelleen riittämätöntä, tulee kylmävaraajien määrää lisätä, kunnes viilennyskapasiteetti on riittävä.

6.3.2 Säilyvyystutkimus

Säilyvyystutkimus oli suppea ja se sisälsi monia epävarmuustekijöitä, joilla oli vaikutusta tulosten tulkintaan. Näytteenotossa esiintyneiden häiriöiden johdosta kylmässä säilytetyn näytteen I todellista lähtöpitoisuutta ei voitu varmuudella arvioida. Lisäksi siirrostetulla näytteellä esiintyi mikrobiologisissa rinnakkaistuloksissa enemmän hajontaa kuin muilla näytteillä. Tähän lienee vaikuttanut pipetoidun siirroksen määrä ja mittaustarkkuus, sillä bakteerit ovat eläviä organismeja ja niiden jakaantumisessa esiintyy jo luontainenkin määrä vaihtelua (SFS-EN ISO 19458: 2007, 8). Näytteiden edustavuuteen lienee vaikuttanut myös eri päivänä analysoitujen näytteiden ottaminen näytteenoton yhteydessä eri pulloihin, jolloin näytteen lähtötilanne saattoi olla erilainen eri näytepulloissa. Samoin epävarmuutta tuloksiin mahdollisesti aiheutti näytepulloihin jääneen ilmatilan määrä. Näin ollen oli vaikeaa arvioida hapen tai hiilidioksidin vaikutuksesta aiheutuneet pitoisuuksien muutokset.

Säilyvyystutkimuksessa analysoitujen näytteiden fysikaaliset ja kemialliset rinnakkaistulokset (A ja B) olivat uskottavia, sillä tulosten keskihajonnat olivat pieniä. Suurempaa hajontaa esiintyi KMnO_4 -luvun pitoisuuksissa sekä näytteiden I ja III metallipitoisuuksissa. Rauta- ja mangaaninäytteiden uusimisella tai suodattamisella ei näyttänyt olevan merkittävää vaikutusta näytteiden keskiarvopitoisuuksiin. Näin ollen tulosten toistettavuus oli myös hyvä. Lisäksi kaikki analyysit oli tehty Viljavuuspalvelun akkreditoituilla menetelmillä, joissa noudatettiin menetelmille annettuja laaturajoja. Aineiston vähyydestä johtuen säilyvyystutkimuksessa saadut tulokset ovat vain suuntaa antavia, eikä niitä voida yleistää ilman laajempia testauksia. Toisaalta tulokset olivat osin rinnastettavissa kirjallisuudesta saatuihin tietoihin.

Huoneenlämmössä säilytetyissä vesinäytteissä esiintynyt koliformisten bakteeri- ja *E.coli*-pitoisuuksien pienentyminen saattoi aiheutua vesinäytteissä olleiden muiden mikrobien lisääntymisestä, jotka heikensivät tutkittavien indikaattorimikrobien elinmahdollisuuksia (Hokajärvi ym. 2008, 45). Tämä olisi ollut hyvä selvittää kokeellisesti määrittämällä kokonaisbakteerien lukumäärä. Lisäksi *E.colin* kasvun optimilämpötila (+39 °C) on huoneenlämpöisiä olosuhteita huomattavasti korkeampi, joten huoneenlämpöiset olosuhteet eivät suosineet *E.colin* lisääntymistä (Solunetti c). Lisäksi Pitkäsen (2002) mukaan monet tutkimukset, kuten myös tehdyn säilyvyystutkimuksen *E.coli*-pitoisuudet, osoittivat taudinaiheuttajamikrobien säilyvän paremmin elinkykyisinä kylmässä kuin lämpimässä vedessä. Toisaalta indikaattorimikrobien ja kokonaisbakteerien käyttäytymistä olisi mielenkiintoista tutkia kesäaikana otetuista vesinäyt-

teistä, joiden alkulämpötila on korkeampi ja mahdollisesti muiden mikrobien esiintyminen runsaampaa.

Vertailtaessa kylmässä säilytettyjen näytteiden bakteeripitoisuuksia lähtötilanteeseen, havaittiin näytteiden koliformisten bakteerien ja *E.colin* pysyvän, yhtä näytettä lukuun ottamatta, vielä kolmen päivän jälkeen näytteenotosta laboratorion asettamissa laaturajoissa. Vastaavasti lämpimässä säilytettyjen näytteiden pitoisuudet alenivat enimmillään yli 60 % lähtötasosta jo vuorokauden kuluttua näytteenotosta. Muutoksella ei ollut kuitenkaan vaikutusta talousvedelle annettuun STM:n asetuksen 401/2001 mukaiseen laatuvaatimukseen, sillä näyte ei täytä asetuksen vaatimuksia, jos siinä esiintyy yksikin *E.coli*-bakteeri (liite 2). Näytteen III, kylmässä kolme vuorokautta säilynttä *E.coli*-bakteerin esiintymistä voinee pitää enemmänkin sattumana, sillä mikrobit jakautuvat epätasaisesti näytteisiin. Samoin koliformisten bakteereiden lukumäärä ei ylittänyt yksityisille kaivovesille annettua laaturajaa (< 100 pmy/ 100 ml näytettä) millään tarkasteluajankohtana (liite 2).

Säilyvyystutkimuksesta saadut mikrobiologiset tulokset osoittivat osaltaan sen, miten huoneenlämpöiset olosuhteet voivat suosia muita mikrobeja. Näin ollen koliformisten bakteereiden määrä voinee lämpimässä säilytettyjen tai viilentämättömien (pidentyneiden) näytelähetyksien kohdalla olla alhaisempi kuin todellinen lähtöpitoisuus. Samoin vähäinen *E.coli*-pitoisuus voinee säilytyksen edetessä hävitä jopa kokonaan.

Lämpöiset ja hapettomat (korkki kiinni) olosuhteet voivat nopeuttaa nitraatin pelkistymistä nitriitiksi, sillä typen muutuntaprosessit (mm. nitrifikaatio ja denitrifikaatio) ovat Sojakan & Välimäen (2011) mukaan riippuvaisia mikrobitoiminnasta. Tämä havaittiin selkeästi näytteellä I, jonka nitraattipitoisuuksissa tapahtui laskua ja nitriittipitoisuuksissa nousua jo vuorokauden jälkeen näytteenotosta. Kylmässä säilytettyjen vesinäytteiden I nitraattipitoisuuksien nousu viittaisi ammoniumin ja nitriitin hapettumiseen nitraatiksi. Toisaalta on mahdotonta tietää kylmässä säilytetyn näytteen todellista nitraatin lähtöpitoisuutta (aika 0 ja 1) tai vesinäytteessä olevan hapen tai ammoniumin määrää. Typpiyhdisteiden kokonaismäärän (KOK-N) ja ammoniumtypen määrittäminen olisivat antaneet enemmän lisätietoa myös tästä muutuntaprosessista.

Näytteiden säilyvyysajalla (0–3 vrk) ja säilytyslämpötilalla ei ollut merkittävää vaikutusta pH:n ja KMnO_4 -luvun pitoisuuksiin, sillä näytteitä säilytettiin koskemattomina

(korkit kiinni) analysointiin ja kestäväointiin asti. Näin ilmasta imeytyvä hiilidioksidi tai happi ei aiheuttanut muutoksia näytteisiin. Samoin näytteiden II ja IV rauta- ja mangaanipitoisuudet pysyivät lähes muuttumattomina koko säilyvyystutkimuksen ajan. Vastaavasti näytteiden I rauta- ja mangaanipitoisuudet sekä näytteen III rautapitoisuudet vaihtelivat lähtötasosta sekä lämpimässä että kylmässä säilytetyillä näytteillä.

Rauta- ja mangaanipitoisuuksissa esiintyneet hajonnat voivat johtua monesta tekijästä, kuten näytteenotosta ja sen edustavuudesta. Hajontaa voi aiheuttaa myös näytteen sameus, sillä näytteen I mangaanipitoisuus (n. 1400 µg/l) ylitti huomattavasti STM:n asetuksen 401/2001 asettaman laatusuosituksen 100 µg/l (liite 2). Näin ollen näytteen hienojakoiset saostumat voivat näytteenoton yhteydessä jakautua epätasaisesti näyteastioihin. Muutoksia voinee aiheuttaa myös säilytyksen aikainen lämpötila, sekä kestäväimättömissä näytteissä ajan vaikutuksesta tapahtuvat kemialliset muutokset. Näytteessä oleva happi voi esimerkiksi saostaa rautaa, jolloin näytteen laatu muuttuu epätasaiseksi (Särkkä 1996, 62). Tätä tulkintaa tukevat myös mittaukselliset tulokset, sillä eri näyteastioihin kestäväoityjen rinnakkaisnäytteiden (A ja B) tuloksissa ei ollut suuria eroavaisuuksia. (Liite 10; Liite 11.) Samansuuntaista hajontaa oli havaittavissa samoilla näytteillä myös koliformisissa bakteereissa ja näytteellä I nitraatissa, joten näytteenotossa esiintyneet häiriöt tai näytteen epätasainen laatu lienee selkein syy tulosten hajontaan.

STM:n asetuksessa 401/2001 on annettu laatuvaatimukset ja -suositukset (tutkittavat parametrit, liite 2) pienten yksiköiden talousvesille (mm. yksityisille kaivovesille), minkä perusteella talousveden tutkimustulokset arvostellaan. Suoritettujen mikrobiologisten ja kemiallisten tutkimuksien perusteella pitoisuuksien muutoksilla ei ollut vaikutusta lopputuloksiin tai niistä annettaviin lausuntoihin, koska muutoksien vaikutuksesta laaturajat eivät ylittyneet. Esiintyvillä muutoksilla voi olla vaikutusta lopputuloksiin, jos pitoisuudet ovat lähellä analyysin määrittämissä rajoissa tai asetuksessa annettuja enimmäispitoisuuksia. Toisaalta muutokset voivat olla huomattavasti suurempia tai nopeampia likaisilla vesillä tai jätevesillä, missä on paljon biologista toimintaa (EN ISO 5667-3: 2003, 2).

7 JOHTOPÄÄTÖKSET

Vesinäytteiden haasteellisista olosuhteista huolimatta havaittiin kuljetuksen aikaisten lämpötilaolosuhteiden pysyvän suurimman osan mittausajasta (71 %) standardien SFS-EN ISO 19458 ja EN ISO 5667-3: 2012 asettaman lämpötilavaatimuksen ($+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$) mukaisena. Selkeitä poikkeamia havaittiin yön yli kuljetettavissa, erityisesti kesäaikana tapahtuvissa näytelähetyksissä, joissa tavoitelämpötilan saavuttamiseen kului aikaa noin 10–17 tuntia. Lisäksi yhden näytelähetyksen tavoitelämpötila jäi kokonaan saavuttamatta. Vastaavasti kaikki alkulämpötilaltaan alhaisemmat ja jääkaapissa viilennetyt näytteet saavuttivat tavoitelämpötilan neljään tuntiin mennessä.

Tämän tutkimusaineiston perusteella oli vaikea arvioida riittävän kylmäkapasiteetin määrää, koska vuodenaikasta riippumatta kylmävaraajia käytettiin näytekiloa kohden lähes saman verran kesällä kuin muina ajankohtina. Samoin näytelähetyksien näytemäärällä, lämpötilan muutoksella ja kylmävaraajien määrällä ei näyttänyt olevan selkeää riippuvuutta toisistaan. Näytteiden nopeamman viilentymisen aikaansaamiseksi voidaan tulosten perusteella suositella kylmäkapasiteetin määrään lisäämistä ja vaikutusten seuraamista lämpötilaloggereiden avulla. Lisäksi kuljetusolosuhteita tulee vakioida käyttämällä samankokoisia kylmävaraajia sekä kylmälaukkuja, jotta voidaan paremmin havainnoida muutosten suuntaa. Ohjeelliseksi määräksi suosittelen kesän lähetyksissä käytettävän vähintään 0,5 kg kylmävaraajia/ 1 kg näytettä ja muina aikoina 0,4 kg kylmävaraajia/ 1 kg näytettä. Mikäli viilennys on edelleen riittämätöntä, tulee kylmävaraajien määrää yhä lisätä. Samoin tulisi suosia näytteiden viilentämistä ennen kuljetusta, aina silloin, kun siihen on mahdollisuus.

Säilyvyystutkimuksissa todettiin lämpimässä säilytetyissä näytteissä tapahtuvan joidenkin parametrien kohdalla suurempia muutoksia kuin kylmässä säilytetyillä näytteillä. Tämä oli selkeämmin havaittavissa erityisesti koliformisilla bakteereilla, *E.colilla*, nitraatilla ja nitriitillä. Verrattaessa lämpimässä säilytetyissä näytteissä tapahtuvia muutoksia standardin mukaisesti analysoituun näytteeseen, pitoisuudet ylittivät menetelmälle asetetut laaturajat jopa vuorokauden kuluttua näytteenotosta. Toisaalta kylmässä säilytettyjen näytteiden pitoisuudet pysyivät lähes muuttumattomana lähtötilanteesta vielä vuorokauden jälkeen näytteenotosta. pH:n ja KMnO_4 -luvun määrittämisessä säilytyslämpötilalla ja säilytysajalla ei ollut merkittävää vaikutusta näytteiden pitoisuuksiin. Vastaavasti raudan ja mangaanin pitoisuuksissa esiintyi joillakin

näytteillä hajontaa, joka mahdollisesti johtui näytteenotossa esiintyvistä häiriöistä ja sen edustavuudesta tai kestäväimättömissä näytteissä ajan vaikutuksesta tapahtuvista kemiallisista muutoksista.

Säilyvyystutkimus oli näytemäärältään vähäinen, joten sen perusteella ei voida tehdä yleistäviä johtopäätöksiä muutoksen suunnasta tai määrästä. Vesinäytteiden käyttäytymiseen vaikuttanee monet biologiset ja kemialliset reaktiot, joiden yhteisvaikutuksia on vaikea arvioida ilman laajempia tutkimuksia. Lisäksi muutoksien suuruuteen vaikuttavat vuodenajasta johtuvat olosuhteet sekä vesityyppi.

Opinnäytetyössä saatiin kartoitettua näytteiden säilyvyyteen vaikuttavia tekijöitä, joita on jo käytetty hyväksi näytteiden esikäsittelyyn ja näytteenottoon liittyvien ohjeiden päivittämisessä. Säilyvyystutkimus antoi myös kirjallisuudesta saatujen tietojen tueksi lisätietoa bakteereiden ja yleisempien kaivovesiparametrien käyttäytymisestä. Opinnäytetyöstä saatujen tietojen perusteella tulee ensisijaisesti noudattaa menetelmäkohdaisissa standardeissa esitettyjä säilyvyysaikoja. Erityisen tärkeää on noudattaa näytteiden nopeaa viilentämistä $+5 \pm 3^{\circ}\text{C}$:een tavoitelämpötilaan, sillä huoneenlämpöisissä olosuhteissa havaittiin joidenkin parametrien kohdalla tapahtuvan nopeammin muutoksia kuin kylmässä. Kuljetuksen aikaisesta lämpötilanseurannasta saatuja tietoja tulee käyttää hyväksi näytteiden logistiikan ohjeistuksessa. Lisäksi näytteiden logistiikka tulee suunnitella siten, että näytteet saapuvat viilennettyinä mahdollisimman nopeasti laboratorioon.

LÄHTEET

Ahonen, Veli-Matti 2008. Menettelytapaohje fysikaalis-kemiallisten määritysten validointiin. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 18.4.2008.

Ahonen, Veli-Matti 2010. Veden pH-arvon määrittäminen. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 2.11.2010.

Ahonen, Veli-Matti 2013a. Veden permanganaattiluvun määrittäminen (SFS 3036:1981). Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 11.2.2013.

Ahonen, Veli-Matti 2013b. Valvontakorttien teko vesikemian laboratoriossa. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 11.3.2013.

BWT. Best Water Technology. Kotitalousveden kemialliset ongelmat. [www-dokumentti](http://www.hoh.fi/index.php?pageid=7&aid=37&lang=fi). <http://www.hoh.fi/index.php?pageid=7&aid=37&lang=fi>. Ei päivitystietoja. Luettu 8.1.2014.

Chapman, Deborah 1996. Water quality assessments. A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring. Second Edition. UNESCO/WHO/UNEP. Great Britain, Cambridge: University Press.

Comark. Part number EVT2. [www-dokumentti](http://www.comarkinstruments.com/specification.tpl?product_id=82). http://www.comarkinstruments.com/specification.tpl?product_id=82. Ei päivitystietoja. Luettu 12.1.2014.

EN ISO 5667-3: 2003. Water quality-Sampling-Part 3: Guidance on the preservation and handling of water samples. Brussels: European committee for standardization.

EN ISO 5667-3: 2012. Water Quality. Sampling. Part 3: Preservation and handling of water samples. Brussels: European committee for standardization.

Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Yritys. [www-dokumentti](http://viljavuuspalvelu.fi/fi/node/2). <http://viljavuuspalvelu.fi/fi/node/2>. Ei päivitystietoja. Luettu 15.3.2014.

Evira 2012. EU-alueen laboratorioiden toimiminen Suomen markkinoilla. [www-dokumentti](http://www.evira.fi/portal/fi/tietoa+evirasta/esittely/toiminta/laboratoriotoiminta/eviran+hyvaksymat+laboratoriot/ulkomaiset+laboratoriot/). <http://www.evira.fi/portal/fi/tietoa+evirasta/esittely/toiminta/laboratoriotoiminta/eviran+hyvaksymat+laboratoriot/ulkomaiset+laboratoriot/>. Päivitetty 20.6.2012. Luettu 18.3.2014.

Hokajärvi, Anna-Maria, Pitkänen, Tarja, Torvinen, Eila & Miettinen, Ilkka T. 2008. Suolistoperäisten taudinaiheuttajamikrobien esiintyminen luonnonvesissä. Kirjallisuuskatsaus terveysriskeistä ja niiden suuruuteen vaikuttavista tekijöistä. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B 1/2008. pdf-dokumentti. <http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/80487/2008b01.pdf?sequence=1>. Helsinki: Kansanterveyslaitos, Ympäristöterveyden osasto, Ympäristömikrobiologian laboratorio. Päivitetty 1/2008. Luettu 21.2.2014.

Hokkanen, Mervi 2012. Veden kokonaistypen (peroksidisulfaattihapetus), nitraatti-nitriittitypen summan ja nitriittitypen määrittäminen Aquakem-analysaattorilla. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 28.2.2012.

IDEXX 2003. IDEXX Colilert® Test Method for the Simultaneous Detection of Total Coliforms and E.coli in Water. Draft.

Jaarinen, Soili & Niiranen, Jukka 2000. Laboratorion analyysitekniikka. Laatu, spektrometria, kromatografia. 3.painos. AEL. Helsinki: Oy Edita Ab.

Karjalainen, Leila 2010. Tilastotieteen perusteet. Ensimmäinen painos. Keuruu: Ota-van Kirjapaino Oy.

Koivunen, Kalevi 2012. Käyttöohje laitteelle Comarks EVT2-lämpötilaloggeri. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 1.3.2012.

Mäkelä, Ari, Antikainen, Sari, Mäkinen, Irma, Kivinen, Jarmo & Leppänen, Tuula 1992. Vesitutkimusten näytteenottomenetelmät. Vesi- ja ympäristöhallinnon julkaisuja – sarja B 10. Helsinki: Valtion painatuskeskus.

Opetushallitus a. Laboratorioanalyysit. Veden koliformisten bakteerien kokonaismäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä. [www-dokumentti. http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/ymparistoanalyysit_koliformiset_bakterit.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/ymparistoanalyysit_koliformiset_bakterit.html). Ei päivitystietoja. Luettu 7.1.2014.

Opetushallitus b. Laboratorioanalyysit. Potentiometria. [www-dokumentti. http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmät_6-2_potentiometria.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmät_6-2_potentiometria.html). Ei päivitystietoja. Luettu 12.2.2014.

Pitkänen, T. 2002. Survival of Campylobacter jejuni, Escherichia coli and Klebsiella pneumonia in drinking water. International Symposium on Waterborne Pathogens. Pidetty Cascaissa, Portugalissa 22–25.9.2002.

Pitkänen, Tarja 2003. Koliformiset bakteerit talousvedessä. Vesitalous 4/2003, 14–16. Verkkolehti. pdf-dokumentti. http://www.vesitalous.fi/wp-content/uploads/2010/02/4_2003.pdf. Ei päivitystietoja. Luettu 12.1.2014.

Pönkä, Antti 2006. Terveysturvallisuus, 4. painos. Suomen ympäristöterveys Oy. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Salkinoja-Salonen, Mirja 2002. Mikrobiologian perusteita. Mikrobiologian julkaisuja 49/2001. Talousveden mikrobiologia. Hänninen Marja-Liisa. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

SFS 3016: 2011. Veden laatu. Koliformisten bakteerien kokonaismäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

SFS 3036: 1981. Veden kemiallisen hapen kulutuksen COD_{Mn} -arvon tai KMnO₄ -luvun määrittäminen. Hapetus permanganaatilla. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

SFS 3951:1984. Vesinäytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten.. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

SFS 4088: 2001. Veden laatu. Lämpökestoisten koliformisten bakteerien lukumäärän määrittäminen kalvosuodatusmenetelmällä. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto

SFS-EN ISO 11885: 2007. Water Quality. Determination of Selected Elements by Inductively Coupled Plasma Optical Emission spectrometry (ICP-OES). Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

SFS-EN ISO 19458: 2007. Veden laatu. Näytteenotto mikrobiologista tutkimusta varten. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

SFS-EN ISO 9308-3: 1999. Veden laatu. *Escherichia coli* ja koliformibakteerien havaitseminen ja laskeminen pinta- ja jätevedestä. Osa 3: Pienen mittakaavan MPN (todennäköisin lukumäärä) liuosmenetelmä. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

Sojakka, Kirsi & Välimäki Maija-Liisa 2011. Ammatillinen mikrobiologia. Opetushallitus. Tampere: Juvenes Print.

Solunetti a. Ympäristötekijät. www-dokumentti.
http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/ymparistotekijat_1/2/. Ei päivitystietoja. Luettu 14.1.2014.

Solunetti b. Mikropopulaation kasvuvaiheet. www-dokumentti.
http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/mikrobipopulation_kasvuvaiheet/3/. Ei päivitystietoja. Luettu 14.1.2014.

Solunetti c. Lämpötila. www-dokumentti.
http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/lampotila_1/3/. Ei päivitystietoja. Luettu 12.2.2014.

STM:n asetus 173/2001. Sosiaali- ja terveysministeriön asetus talousveden valvontatutkimuksia tekevästä laboratorioista. www-dokumentti.
<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2001/20010173>. Ei päivitystietoja. Luettu 5.1.2014.

STM:n asetus 401/2001. Sosiaali- ja terveysministeriön asetus pienten yksiköiden talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista. www-dokumentti.
<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2001/20010401>. Ei päivitystietoja. Luettu 7.1.2014.

STM:n asetus 461/2000. Sosiaali- ja terveysministeriön asetus talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista. www-dokumentti.
<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2000/20000461>. Ei päivitystietoja. Luettu 5.1.2014.

Särkkä, Jukka 1996. Järvet ja ympäristö. Limnologian perusteet. Tampere: Tammer-Paino Oy.

Teopal. Spektrofotometrit. www-dokumentti.
http://www.teopal.fi/analysointi_spektrofoto.php. Ei päivitystietoja. Luettu 17.1.2014.

Terveyden ja hyvinvoinninlaitos 2013. Mangaani on terveysriski juomavedessä. www-dokumentti. http://www.thl.fi/fi_FI/web/fi/tiedote?id=34166. Päivitetty 29.8.2013. Luettu 9.1.2014.

Terveystensuojelulaki 763/1994. [www-dokumentti](#).

<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/1994/19940763>. Ei päivitystietoja. Luettu 6.1.2014.

Tiainen, Leila 2011. Validointipöytäkirja. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 4.2.2011.

Tiainen, Leila 2013. iCap Duo 6500 käyttöohje. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 1.2.2013.

Tirkkonen, Anneli 2014. Kuvat. Ympäristötekniikan opiskelija. Mikkelin ammattikorkeakoulu.

Tuhkalainen, Terhi 2008. Kolimuotoiset bakteerit ja Eschericia coli. Määrittäminen vedestä Colilert-testillä. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 9.1.2008.

Tuhkalainen, Terhi 2013. Mikrobiologiset työskentelytavat ja laadunvarmistus. Eurofins Viljavuuspalvelu Oy. Moniste. Päivitetty 15.5.2013.

Valvira. Talousvesi. [www-dokumentti](#).

http://www.valvira.fi/ohjaus_ja_valvonta/terveydensuojelu/talousvesi. Ei päivitystietoja. Luettu 12.1.2014.

Mikrobiologisten vesinäytteiden säilyvyys

SUOMEN STANDARDISOIMISLIITTO SFS
FINNISH STANDARDS ASSOCIATION SFS

SFS-EN ISO 19458
36

Liite B

(opastava)

Suosittelvat (R) ja hyväksyttävät (A) näytteen säilytyksen (sisältäen kuljetuksen) enimmäisajat ja säilytyslämpötilat silloin, kun ei ole toisin määrätty menetelmäkohtaisissa standardeissa

Taulukko B.1

	Näytteen säilytyksen enimmäisaika (h) mukaan lukien kuljetus		Veden lämpötila säilytyksen aikana °C		Havainnot ^a
	R	A	R	A	
Yleistä					
Viljeltävät mikrobit (22 °C, 30 °C, tai 36 °C)	8	12	5 ± 3		
Suolistoindikaattorit, vegetatiiviset bakteerit					
<i>E. coli</i> (ja koliformiset bakteerit)	12	18	5 ± 3		
Enterokokit	12	18	5 ± 3		
<i>Clostridium perfringens</i> (vegetatiiviset solut)	12	18	5 ± 3		
Itiöt					
Sulfiittia pelkistävien bakteerien itiöt (<i>Clostridium</i> spp.)	24	72	5 ± 3		Tuhotuminen havaittu raakavesissä 24 h kuluttua
Virukset					
Bakteriofaagit	48	72	5 ± 3		
Suolistopatogeenit					
<i>Salmonella</i> spp. ja muut <i>Enterobacteriaceae</i> -heimoon kuuluvat	12	18	5 ± 3		
Enterovirukset	48	72	5 ± 3		
	1 kk		-70	-20	
<i>Cryptosporidium</i> ookystat	24	96	5 ± 3	Ympäröivä	
<i>Giardia</i> kystat	24	96	5 ± 3		
Muut mikro-organismit					
Ameebat	24	96	5 ± 3		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	12	Ympäröivä	5 ± 3	
<i>Legionella</i> spp.	24		5 ± 3	Ympäröivä	
		48	5 ± 3		
Syanobakteerit	48	72	5 ± 3		Joskus solujen hajoaminen tapahtuu muutamassa tunnissa
<i>Campylobacter</i> (lämpökestoiset lajit)	24		3 ± 2		Herkkä hapelle
Kokonaisbakteerit epifluoresenssianalyysiä varten	1 vuosi		Ympäröivä		Stabilointi pölyttömässä pullossa 3 %:ssa formaldehydissä pimeässä
Loismatojen munat	48	72	5 ± 3		
		1 viikko	5 ± 3		Näyte stabiloidaan pH = 2

^a Ks. viitteet [1], [2], [4], [5], [6], [7], [8], [9], [11] ja [15] kirjallisuusluettelossa

LIITE 2.**STM:n asettamat talousveden laatuvaatimukset ja -suositukset**

Parametri	STM:n asetus 401/2001	STM:n asetus 461/2000
E.coli *	0 pmy/100 ml *	0 pmy/100 ml *
Koliformiset bakteerit	0 pmy/100 ml, < 100 pmy/100 ml ³	0 pmy/100 ml
Nitraatti *	50 mg/l ^{*1}	50 mg/l ^{*1}
Nitriitti *	0,5 mg/l ^{*1}	0,5 mg/l ^{*1}
pH	6,5–9,5	6,5–9,5
KMnO ₄ , COD _{Mn} ²	20 mg/l	5,0 mg/l ²
Fe	200 µg/l, 400 µg/l ³	200 µg/l
Mn	50 µg/l, 100 µg/l ³	50 µg/l

* Talousveden laatuvaatimukset

¹ Nitriitin enimmäispitoisuus vesilaitokselta lähtevässä vedessä on 0,10 mg/l;
nitraattipitoisuus/50 + nitriittipitoisuus/3 ei saa ylittää arvoa 1

² Hapettavuus, (COD_{Mn}-O₂)

³ STM:n asetuksen 401/2001 1 §:n 3 kohdan talousvedelle asetetut laatusuositukset
(yksityiset kaivovedet)

Ohje lämpötilaloggerin käyttäjälle

OHJE LOGGERIN KÄYTTÄJÄLLE

Laite toimitetaan asiakkaalle suljettuna, jotta laitteen paristo ei turhaan kuluisi loppuun.

Lämpötilanseurantaa varten **Loggeri käynnistetään manuaalisesti painamalla sinistä nappia 5 sekunnin** ajan. Tällöin Active merkkiledi alkaa vilkkua.

Mikäli laitteeseen on ohjelmoitu viivästynyt tiedonkeruu, loggerin näytölle tulee teksti DELAY. Tällöin lämpötilan keruu käynnistyy vasta esiasetetun ajan jälkeen.

Täytä oheiset tiedot ja liitä kaavake Loggerin mukaan (lähettäjä täyttää)

Loggerin numero	
Käynnistys pvm.	
Käynnistys klo.	
Käynnistäjä	
Käynnistäjän puh.	
Näytemäärä kg/ l	
Näytetyyppi	
Kylmävaraajien määrä	
Näytteille tehtävät toimenpiteet ennen lähetystä (jäähdytys tms.)	

LOGGERIN vastaanottaja täyttää

Vastaanotto pvm ja klo	
Lämpötila	
Muut huomiot	
Vastaanottaja	

Tietojen lukemisen jälkeen Loggeri **sammutetaan painamalla sinistä nappia 5 sekunnin ajan**.

JAKELU:

Laatupäällikkö

Osastokansiot: Mikrobiologia, Vesikemia, Asiakaspalvelu

Työpisteet: Mikrobiologia, Pullopakkaus, Näytteenottaja, ATK-suunnittelija

Laitekansio

LIITE 4.

Lämpötilaloggerin mittaustulokset 5.-6.2.2013

Rek. No.	Päivä/aika	Kanava 1 (°C)
1	5.2.2013 14:15:34	21,2
2	5.2.2013 14:30:34	13,7
3	5.2.2013 14:45:34	11,8
4	5.2.2013 15:00:34	11,5
5	5.2.2013 15:15:34	11,2
6	5.2.2013 15:30:34	10,8
7	5.2.2013 15:45:34	10,3
8	5.2.2013 16:00:34	9,1
9	5.2.2013 16:15:34	8,6
10	5.2.2013 16:30:34	8,2
11	5.2.2013 16:45:34	7,9
12	5.2.2013 17:00:34	7,6
13	5.2.2013 17:15:34	7,2
14	5.2.2013 17:30:34	7,0
15	5.2.2013 17:45:34	6,7
16	5.2.2013 18:00:34	6,5
17	5.2.2013 18:15:34	6,2
18	5.2.2013 18:30:34	6,0
19	5.2.2013 18:45:34	5,7
20	5.2.2013 19:00:34	5,5
21	5.2.2013 19:15:34	5,3
22	5.2.2013 19:30:34	5,1
23	5.2.2013 19:45:34	4,9
24	5.2.2013 20:00:34	4,7
25	5.2.2013 20:15:34	4,6
26	5.2.2013 20:30:34	4,4
27	5.2.2013 20:45:34	4,3
28	5.2.2013 21:00:34	4,1
29	5.2.2013 21:15:34	4,0
30	5.2.2013 21:30:34	3,9
31	5.2.2013 21:45:34	3,8
32	5.2.2013 22:00:34	3,8
33	5.2.2013 22:15:34	3,9
34	5.2.2013 22:30:34	3,8
35	5.2.2013 22:45:34	3,8
36	5.2.2013 23:00:34	3,7
37	5.2.2013 23:15:34	3,7
38	5.2.2013 23:30:34	3,7
39	5.2.2013 23:45:34	3,6
40	6.2.2013 0:00:34	3,5
41	6.2.2013 0:15:34	3,5
42	6.2.2013 0:30:34	3,4
43	6.2.2013 0:45:34	3,3
44	6.2.2013 1:00:34	3,4
45	6.2.2013 1:15:34	3,3
46	6.2.2013 1:30:34	3,2
47	6.2.2013 1:45:34	3,1
48	6.2.2013 2:00:34	3,0
49	6.2.2013 2:15:34	2,9
50	6.2.2013 2:30:34	2,8
51	6.2.2013 2:45:34	2,8
52	6.2.2013 3:00:34	2,7
53	6.2.2013 3:15:34	2,6
54	6.2.2013 3:30:34	2,6
55	6.2.2013 3:45:34	2,5
56	6.2.2013 4:00:34	2,4
57	6.2.2013 4:15:34	2,3
58	6.2.2013 4:30:34	2,3
59	6.2.2013 4:45:34	2,3
60	6.2.2013 5:00:34	2,3
61	6.2.2013 5:15:34	2,3
62	6.2.2013 5:30:34	2,3
63	6.2.2013 5:45:34	2,3
64	6.2.2013 6:00:34	2,3
65	6.2.2013 6:15:34	2,3
66	6.2.2013 6:30:34	2,3
67	6.2.2013 6:45:34	2,3
68	6.2.2013 7:00:34	2,3
69	6.2.2013 7:15:34	2,3
70	6.2.2013 7:30:34	2,3
71	6.2.2013 7:45:34	2,3
72	6.2.2013 8:00:34	2,3
73	6.2.2013 8:15:34	2,2
74	6.2.2013 8:30:34	2,1
75	6.2.2013 8:45:34	2,1

Kanava

Minimi

Maksimi

Keskiarvo

Ch 1 = Lämpötila 2.1 (8:30:34am Hel 6)

21.2 (2:15:34pm Hel 5)

(°C)

Hel 5)

Näytelähetysten tiedot

Loggerin nro	Näyte- lähetys	Mittaus- väli min	Käynnistys pvm	Lopetus pvm	Kaikki tallennukset kpl	Mittausaika [h]	Alkulämpö- tila [°C]	Loppulämpö- tila [°C]	Lämpötilan muutos [°C]	Min [°C]	Maks [°C]	Keskiarvo [°C]	Aika tavoite- lämpötilaan +8 °C	Näyte- määrä [kg]	Kylmävara- jen paino [kg]	Kylmävara- ja (kg)/ 1 kg näytettä	Toimenpiteet ennen lähetystä ym tiedot
2	1	15	6.8.2012	7.8.2012	85	21,5	23,5	8,9	-14,6	8,0	23,5	10,5	16 h 45 min	6,6	1,8	0,27	iso kylmälaukku
5	2	15	7.8.2012	8.8.2012	80	20,0	15,7	3,1	-12,6	2,7	15,7	4,4	1,5 h		1,6		iso kylmälaukku
6	3	10	8.8.2012	9.8.2012	123	20,5	23,1	6,5	-16,6	6,3	23,1	10,1	10 h	5,5	1,9	0,35	iso kylmälaukku
4	4	10	13.8.2012	14.8.2012	112	18,5	12,2	3,8	-8,4	3,2	12,2	5,3	10 min	3,0	1,6	0,53	
3	5	5	3.9.2012	3.9.2012	79	6,5	23,3	11,7	-11,6	11,7	23,3	14,9		5,4	2,0	0,37	iso kylmälaukku
5	6	5	10.9.2012	10.9.2012	70	6,0	20,8	7,6	-13,2	7,6	20,8	11,7	5 h 35 min	4,4	2,0	0,45	iso kylmälaukku
4	7	5	11.9.2012	11.9.2012	56	4,5	20,9	9,5	-11,4	9,5	20,9	12,2		4,4	1,4	0,32	
2	8	5	2.10.2012	3.10.2012	281	23,5	21,2	5,4	-15,8	4,7	21,2	6,3	3 h 35 min	7,0	1,4	0,20	iso kylmälaukku
6	9	5	6.11.2012	7.11.2012	228	19,0	22,4	4,4	-18,0	4,4	22,4	6,8	5 h 10 min	7,0	2,2	0,31	
4	10	10	27.11.2012	28.11.2012	109	18,0	18,3	5,8	-12,5	3,5	18,3	5,6	1 h	3,2	1,3	0,41	
6	11	5	10.12.2012	11.12.2012	231	19,0	21,3	2,7	-18,6	2,3	21,3	5,7	4 h 25 min	7,0	2,7	0,39	
4	12	5	2.1.2013	3.1.2013	254	21,0	20,3	2,5	-17,8	2,5	20,3	5,4	4 h 40 min	6,0	1,8	0,30	
6	13	1	15.1.2013	16.1.2013	1042	17,5	20,0	3,1	-16,9	0,9	20,0	3,2	25 min	5,5	2,0	0,36	osa näytteistä viilenetty jääk.
3	14	15	5.2.2013	6.2.2013	75	19,0	21,2	2,1	-19,1	2,1	21,2	4,8	2,5 h	6,5	1,8	0,28	
5	15	5	26.2.2013	27.2.2013	239	20,0	21,6	6,1	-15,5	5,6	21,6	9,3	8 h 10 min	5,0	1,6	0,32	
5	16	5	6.5.2013	8.5.2013	513	43,0	18,2	7,5	-10,7	4,2	18,2	7,1	10 h 10 min	5,0	1,8	0,36	paketti matkalla 2 päivää
2	17	5	14.5.2013	16.5.2013	499	41,5	21,0	8,9	-12,1	1,4	21,0	4,8	25 min	7,0	2,2	0,31	vilennys jääkaapissa n. 0,5 h
6	18	5	4.6.2013	5.6.2013	223	18,5	19,6	7,6	-12,0	7,2	19,6	9,4	10 h 50 min	5,0	1,8	0,36	paketti matkalla 2 päivää
3	19	5	2.7.2013	3.7.2013	242	20,0	23,8	7,7	-16,1	7,6	23,8	11,4	15,5 h	7,0	1,9	0,27	
5	20	5	29.7.2013	30.7.2013	234	19,5	21,1	6,9	-14,2	2,6	21,1	6,7	25 min	0,5	1,7		jäähdytetty jääkaapissa n. 2 h
6	21	5	7.8.2013	8.8.2013	252	21,0	23,2	11,1	-12,1	10,6	23,2	12,8		5,0	1,8	0,36	
summa					5027												
min							12,2	2,1	-8,4								
maks							23,8	11,7	-19,1								
keskiarvo koko aineisto																	
keskiarvo kesä						17,6	20,6	6,3	-14,3					5,6	1,8	0,33	
keskiarvo muu aika														5,4	1,8	0,34	
														5,6	1,9	0,33	

* Mittausaika ilmoitettu 0,5 h tarkkuudella

Säilyvyystutkimuksen mikrobiologiset tulokset

Koliformiset bakteerit [pmy/100 ml]									
Näytteenotto pvm	Näyte	0		1		2		3	
		tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml	tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml	tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml	tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml
3.2.2014	I, kylmä A	32,4	29	15,0	15	20,7	25	22,2	17
3.2.2014	I, kylmä B	25,4	19 ^I	15,0		28,8		12,4	
3.2.2014	I, lämmin A	22,2	19	17,8	16	11,1	13	7,5	9
3.2.2014	I, lämmin B	15,0		13,7		15,0		11,1	
3.2.2014	II, kylmä A	8,7 ^{II}	8 ^{II}	7,5	8	6,4	7	13,7	12
3.2.2014	II, kylmä B	8,7 ^{II}		8,7		7,5		11,1	
3.2.2014	II, lämmin A	7,5 ^{II}	8 ^{II}	6,4	7	7,5	8	6,4	6
3.2.2014	II, lämmin B	8,7 ^{II}		7,5		7,5		6,4	
3.2.2014	III, kylmä A	13,7 ^{III}	17 ^{III}	7,5	6	15,0	12	8,7	11
3.2.2014	III, kylmä B	16,4 ^{III}		5,3		9,9		12,4	
3.2.2014	III, lämmin A	16,4 ^{III}	17 ^{III}	15,0	13	5,3	6	7,5	7
3.2.2014	III, lämmin B	22,2 ^{III}		11,1		6,4		6,4	
17.2.2014	IV, kylmä A	13,7	13	11,1	10	11,1	8	7,5	8
17.2.2014	IV, kylmä B	12,4		8,7		5,3		8,7	
17.2.2014	IV, lämmin A	15,0	16	4,2	6	2,0	7	7,5	5
17.2.2014	IV, lämmin B	17,8		8,7		11,1		3,1	

^I Lähtötasona pidetty koliformisten bakteerien pitoisuus

^{II} Lähtötasona pidetty kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen näytteiden ka pitoisuus

^{III} Lähtötasona pidetty kylmässä ja lämpimässä säilytettyjen näytteiden ka pitoisuus

<i>E.coli</i> [pmy/100ml]									
Näytteenotto pvm	Näyte	0		1		2		3	
		tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml	tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml	tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml	tulos MPN pmy/100 ml	ka pmy/100 ml
3.2.2014	I, kylmä A	0	0	0	0	0	0	0	0
3.2.2014	I, kylmä B	0		0		0		0	
3.2.2014	I, lämmin A	0	0	0	0	0	0	0	0
3.2.2014	I, lämmin B	0		0		0		0	
3.2.2014	II, kylmä A	0	0	0	0	0	0	0	0
3.2.2014	II, kylmä B	0		0		0		0	
3.2.2014	II, lämmin A	0	0	0	0	0	0	0	0
3.2.2014	II, lämmin B	0		0		0		0	
3.2.2014	III, kylmä A	0	0	0	0	0	0	1	1
3.2.2014	III, kylmä B	0		0		0		0	
3.2.2014	III, lämmin A	0	0	0	0	0	0	0	0
3.2.2014	III, lämmin B	0		0		0		0	
17.2.2014	IV, kylmä A	9,9	9	7,5	6	8,7	7	5,3	5
17.2.2014	IV, kylmä B	7,5		5,3		5,3		4,2	
17.2.2014	IV, lämmin A	12,4	12	2,0	4	2,0	4	3,1	3
17.2.2014	IV, lämmin B	11,1		6,4		6,4		2,0	

MPN= Most Probable Number (todennäköisin lukumäärä) –taulukkoarvo

Mikrobiologisten tulosten yhteensopivuus

Rinnakkaistuloksien A ja B yhteensopivuus						
Koliformiset bakteerit						
Aika	Näyte	Tulos A	Tulos B	LOG A	LOG B	s < 0,25
0	I, kylmä A/B	32,4	25,4	1,511	1,405	0,07
1	I, kylmä A/B	15,0	15,0	1,176	1,176	0,00
2	I, kylmä A/B	20,7	28,8	1,316	1,459	0,10
3	I, kylmä A/B	22,2	12,4	1,346	1,093	0,18
0	I, lämmin A/B	22,2	15,0	1,346	1,176	0,12
1	I, lämmin A/B	17,8	13,7	1,250	1,137	0,08
2	I, lämmin A/B	11,1	15,0	1,045	1,176	0,09
3	I, lämmin A/B	7,5	11,1	0,875	1,045	0,12
0	II, kylmä A/B	8,7	8,7	0,940	0,940	0,00
1	II, kylmä A/B	7,5	8,7	0,875	0,940	0,05
2	II, kylmä A/B	6,4	7,5	0,806	0,875	0,05
3	II, kylmä A/B	13,7	11,1	1,137	1,045	0,06
0	II, lämmin A/B	7,5	8,7	0,875	0,940	0,05
1	II, lämmin A/B	6,4	7,5	0,806	0,875	0,05
2	II, lämmin A/B	7,5	7,5	0,875	0,875	0,00
3	II, lämmin A/B	6,4	6,4	0,806	0,806	0,00
0	III, kylmä A/B	13,7	16,4	1,137	1,215	0,06
1	III, kylmä A/B	7,5	5,3	0,875	0,724	0,11
2	III, kylmä A/B	15,0	9,9	1,176	0,996	0,13
3	III, kylmä A/B	8,7	12,4	0,940	1,093	0,11
0	III, lämmin A/B	16,4	22,2	1,215	1,346	0,09
1	III, lämmin A/B	15,0	11,1	1,176	1,045	0,09
2	III, lämmin A/B	5,3	6,4	0,724	0,806	0,06
3	III, lämmin A/B	7,5	6,4	0,875	0,806	0,05
0	IV, kylmä A/B	13,7	12,4	1,137	1,093	0,03
1	IV, kylmä A/B	11,1	8,7	1,045	0,940	0,07
2	IV, kylmä A/B	11,1	5,3	1,045	0,724	0,23
3	IV, kylmä A/B	7,5	8,7	0,875	0,940	0,05
0	IV, lämmin A/B	15,0	17,8	1,176	1,250	0,05
1	IV, lämmin A/B	4,2	8,7	0,623	0,940	0,22
2	IV, lämmin A/B	2,0	11,1	0,301	1,045	0,53
3	IV, lämmin A/B	7,5	3,1	0,875	0,491	0,27
<i>E.coli</i>						
0	IV, kylmä A/B	9,9	7,5	0,996	0,875	0,09
1	IV, kylmä A/B	7,5	5,3	0,875	0,724	0,11
2	IV, kylmä A/B	8,7	5,3	0,940	0,724	0,15
3	IV, kylmä A/B	5,3	4,2	0,724	0,623	0,07
0	IV, lämmin A/B	12,4	11,1	1,093	1,045	0,03
1	IV, lämmin A/B	2,0	6,4	0,301	0,806	0,36
2	IV, lämmin A/B	2,0	6,4	0,301	0,806	0,36
3	IV, lämmin A/B	3,1	2,0	0,491	0,301	0,13

Mikrobiologisten tulosten yhteensopivuus

Tulosten yhteensopivuus vertailunäytteeseen (lähtötilanteeseen)						
Koliformiset bakteerit						
Aikavertailu	Näyte	Tulos A	Tulos B	LOG A	LOG B	s < 0,25
0/1	I, kylmä	19	15	1,279	1,176	0,07
0/2	I, kylmä	19	25	1,279	1,398	0,08
0/3	I, kylmä	19	17	1,279	1,230	0,03
0/0	I kylmä / I lämmin	19	19	1,279	1,279	0,00
0/1	I kylmä / I lämmin	19	16	1,279	1,204	0,05
0/2	I kylmä / I lämmin	19	13	1,279	1,114	0,12
0/3	I kylmä / I lämmin	19	9	1,279	0,954	0,23
0/1	II, kylmä	8	8	0,903	0,903	0,00
0/2	II, kylmä	8	7	0,903	0,845	0,04
0/3	II, kylmä	8	12	0,903	1,079	0,12
0/0	II, kylmä/ II lämmin	8	8	0,903	0,903	0,00
0/1	II, kylmä/ II lämmin	8	7	0,903	0,845	0,04
0/2	II, kylmä/ II lämmin	8	8	0,903	0,903	0,00
0/3	II, kylmä/ II lämmin	8	6	0,903	0,778	0,09
0/1	III, kylmä	17	6	1,230	0,778	0,32
0/2	III, kylmä	17	12	1,230	1,079	0,11
0/3	III, kylmä	17	11	1,230	1,041	0,13
0/0	III, kylmä/ III lämmin	17	17	1,230	1,230	0,00
0/1	III, kylmä/ III lämmin	17	13	1,230	1,114	0,08
0/2	III, kylmä/ III lämmin	17	6	1,230	0,778	0,32
0/3	III, kylmä/ III lämmin	17	7	1,230	0,845	0,27
0/1	IV, kylmä	13	10	1,114	1,000	0,08
0/2	IV, kylmä	13	8	1,114	0,903	0,15
0/3	IV, kylmä	13	8	1,114	0,903	0,15
0/0	IV, kylmä/ IV lämmin	13	16	1,114	1,204	0,06
0/1	IV, kylmä/ IV lämmin	13	6	1,114	0,778	0,24
0/2	IV, kylmä/ IV lämmin	13	7	1,114	0,845	0,19
0/3	IV, kylmä/ IV lämmin	13	5	1,114	0,699	0,29
<i>E.coli</i>						
0/1	IV, kylmä	9	6	0,954	0,778	0,12
0/2	IV, kylmä	9	7	0,954	0,845	0,08
0/3	IV, kylmä	9	5	0,954	0,699	0,18
0/0	IV, kylmä/ IV lämmin	9	12	0,954	1,079	0,09
0/1	IV, kylmä/ IV lämmin	9	4	0,954	0,602	0,25
0/2	IV, kylmä/ IV lämmin	9	4	0,954	0,602	0,25
0/3	IV, kylmä/ IV lämmin	9	3	0,954	0,477	0,34

Säilyvyystutkimuksen nitraatti ja nitriitti tulokset

* Laskennassa käytetty lähtötasona lämpimässä säilytettyä näytettä (aika 0)

[illegible]

Säilyvyystutkimuksen pH ja KMnO_4 -luku tulokset

[illegible][illegible]

Fe [µg/l] (Lajennettu mittausepävarmuus: 15 %)																
Analy- sointi ppvm	1				2				3				Rinakkaisulosten ero, r %			
	tulos µg/l	ka µg/l	σ µg/l	tulos µg/l	ka µg/l	σ µg/l	tulos µg/l	ka µg/l	σ µg/l	0/1	0/2	0/3	kylmä 0/ lämmin 1	kylmä 0/ lämmin 2	kylmä 0/ kylmä 0/ lämmin 3	
Näyte nimi																
I, kylmä A	211,8	210	0,50	272,2	270	1,15	163,6	170	2,20	166,0	21	21	-9,1	-13	-29	
I, kylmä B	210,8			274,5			168,0									
I, lämmin A	235,3	230	1,55	235,3	240	1,85	227,0	220	2,90	274,4	-4,3	-20				
I, lämmin B	232,2			239,0			221,2			277,7						
I, kylmä A s*	204,2	200	1,35	252,9	250	0,10	157,3	160	2,05	160,8	-22	22	-9,5	-14	-30	
I, kylmä B s*	201,5			253,1			161,4			161,5		-20				
I, lämmin A s*	221,3	220	1,05	232,3	230	0,70	222,6	220	1,30	269,2	-4,4	0,0				
I, lämmin B s*	219,2			230,9			220,0			274,3						
II, kylmä A	199,7	200	0,40	203,7	200	3,80	197,4	200	0,40	195,8	0,0	5,1	0,5	1,5	1,0	
II, kylmä B	200,5			196,1			198,2			193,3						
II, lämmin A	200,2	200	1,15	200,6	200	1,35	197,6	200	0,45	198,8	0,0	0,0				
II, lämmin B	197,9			197,9			196,7			196,4						
III, kylmä A	175,8			228,9	220	6,10	138,4			179,7	-26	19	34	34	34	
III, kylmä B	154,1			216,7			143,2			196,3		-11				
III kylmä A	181,9	170	11,2				149,5	140	4,27							
III kylmä B	160,6						147,5									
III, lämmin A	121,7	120	2,05	125,7	120	3,50	120,9	120	1,40	117,5	0,0	0,0				
III, lämmin B	125,8			118,7			118,1			114,5						
III, kylmä A s*	179,8	170	10,1	242,4	230	8,95	143,5	150	1,95	195,4	-30	13	34	27	34	
III, kylmä B s*	159,7			224,5			147,4			200,5		-16				
III, lämmin A s*	122,6	120	0,75	127,7	120	5,45	127,8	130	0,10	118,9	0,0	-8,0				
III, lämmin B s*	121,1			116,8			127,6			116,8		0,0				
IV, kylmä A	194,5	190	0,80	192,7	190	1,85	189,4	190	1,85	193,2	0,0	0,0	-5,1	0,0	0,0	
IV, kylmä B	192,9			196,4			193,1			193,0						
IV, lämmin A	198,0	200	2,15	194,3	190	0,45	190,8	190	2,00	190,4	5,1	5,1				
IV, lämmin B	193,7			193,4			194,8			195,1						

*s= suodatettu kestävävoimin jälkeen 0,8 µm:n filtrin läpi

Säilyvyystutkimuksen mangaani tulokset

		Mn [$\mu\text{g/l}$] (Laajennettu mittauspävarmuus: 16%)											
Analysointi pvm	Näyte nimi	0			1			2			3		
		tulos $\mu\text{g/l}$	ka $\mu\text{g/l}$	σ $\mu\text{g/l}$	tulos $\mu\text{g/l}$	ka $\mu\text{g/l}$	σ $\mu\text{g/l}$	tulos $\mu\text{g/l}$	ka $\mu\text{g/l}$	σ $\mu\text{g/l}$	tulos $\mu\text{g/l}$	ka $\mu\text{g/l}$	σ $\mu\text{g/l}$
10.2.	I, kylmä A	1428	1400	1,50	1622	1600	9,50	1207	1200	0,50	1271	1300	11,5
10.2.	I, kylmä B	1431			1603			1206			1248		
10.2.	I, lämmin A	1542	1500	1,50	1509	1500	1,00	1574	1600	10,0	1692	1700	10,5
10.2.	I, lämmin B	1545			1511			1554			1671		
3.3.	I, kylmä A s*	1405	1400	9,50	1576	1600	6,50	1231	1200	8,00	1253	1300	1,50
3.3.	I, kylmä B s*	1386			1589			1247			1256		
3.3.	I, lämmin A s*	1496	1500	0,00	1485	1500	8,50	1544	1500	2,00	1684	1700	4,00
3.3.	I, lämmin B s*	1496			1502			1548			1676		
10.2.	II, kylmä A	2,4	<10		2,2	<10		2,4	<10		3,0	<10	
10.2.	II, kylmä B	2,0			2,0			2,0			2,2		
10.2.	II, lämmin A	2,5	<10		2,0	<10		1,9	<10		2,0	<10	
10.2.	II, lämmin B	2,2			2,1			2,0			2,0		
10.2.	III, kylmä A	1,5	<10		2,5	<10		1,5	<10		1,4	<10	
10.2.	III, kylmä B	1,2			1,6			1,5			1,8		
10.2.	III, lämmin A	1,3	<10		1,2	<10		1,8	<10		1,3	<10	
10.2.	III, lämmin B	1,2			1,3			1,3			1,3		
21.2.	IV, kylmä A	1,5	<10		1,4	<10		1,5	<10		1,6	<10	
21.2.	IV, kylmä B	1,5			1,6			1,5			1,6		
21.2.	IV, lämmin A	1,5	<10		1,5	<10		1,5	<10		1,5	<10	
21.2.	IV, lämmin B	1,6			1,6			1,5			1,7		
3.3.	IV, kylmä A s	2,1	<10		2,4	<10		1,4	<10		1,4	<10	
3.3.	IV, kylmä B s	1,3			2,0			1,2			1,5		
3.3.	IV, lämmin A s	1,3	<10		1,4	<10		1,7	<10		1,1	<10	
3.3.	IV, lämmin B s	1,6			1,1			1,4			1,1		

*s= suodattettu kestävyönnin jälkeen 0,8 μm :n filterin läpi